

Analytix

Reporter

滴定のデジタル化

抽出物、浸出物 (E&L) 試験のための
標準物質

医薬品不純物検査の効率を向上

オレゴンリストにおける
大麻の残留農薬分析

フィブロニルとその分解代謝物の
GC/MS測定

インスタントコーヒーの水分測定

HPTLCによる
ステビオールグルコシド類の分離

迅速光度測定試験を用いた
鉄分の高感度定量

メルクの技能試験の新ツール

あなたの食品はヘルシー？

あなたは糖でできている？

ワサビを辛くするものは？

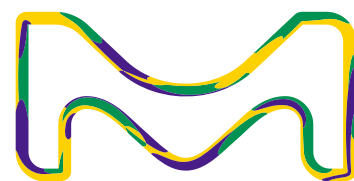
迅速測光試験による
ケイ酸塩の超高感度測定

Supelco®創設者が2019 Pittcon
ヘリテージアワードを受賞

Titration 4.0

スマートケミカルでデータインテグリティを
改善、効果的に！





科学&技術 イノベーション

- 3 滴定のデジタル化Ⅰ：
スマートケミカルによって滴定データの
整合性と効率性を向上
- 6 滴定のデジタル化Ⅱ：
3S試薬 – 安全性と信頼性が向上した滴定分析

医薬品およびバイオ医薬品

- 7 抽出物、浸出物 (E&L) 試験のための標準物質
- 8 不純物検査の効率を向上

食品および飲料

- 10 QuEChERS抽出とクリーンアップを用いた、
オレゴンリストにおける大麻の残留農薬分析
- 16 卵、鶏肉、マヨネーズにおけるフィプロニルと
その分解代謝物のGC/MS測定
- 17 インスタントコーヒーの水分測定
- 19 HPTLCによる
ステビオールグルコシド類の分離
- 21 迅速光度測定試験を用いた飲用水、ミネラルウォーター、
地下水、および湧水中鉄分の高感度定量
- 24 メルクの技能試験
- 25 あなたの食品はヘルシー？
- 27 あなたは糖でできている？
- 30 ワサビを辛くするものは？

化学工業

- 31 迅速測光試験によるプロセス水およびボイラー水中ケイ酸塩の超高感度測定

お知らせ

- 34 Supelco®創設者が2019 Pittconヘリテージアワードを受賞

滴定のデジタル化 I

スマートケミカルによって滴定データの整合性と効率性を向上

Bettina Straub-Jubb, Product Manager Titration, Analytix@milliporesigma.com



滴定のデジタル化 – 水分計メーカーとの共同プロジェクト

高性能滴定機器メーカーとして有名なスイスのメトラートレド社と、高品質分析試薬と認証標準物質メーカーのメルクは、データの整合性を改善するためのこの新しい滴定技術を共同開発しました。データを試薬から滴定装置に無線で転送するツールを作成し、滴定分析に新しいページを築きました。

緒言

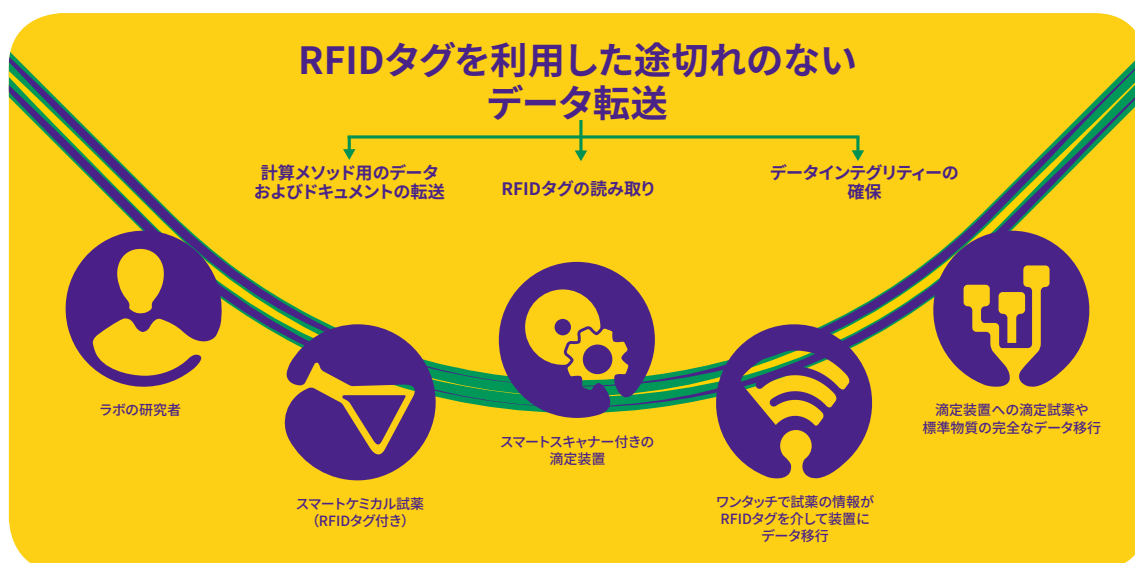
この技術はスマートケミカルと名づけ、滴定プロセスに適用することによって、データ転送が保護されます。さらに、手動のデータ転送をなくして時間を節約します。

多くの場合、分析証明書をダウンロードするとともに、結果を正しく計算して文書化するために、続けてデータを手動で滴定装置のソフトウェアに登録する必要があります。このプロセスには時間がかかり、タイプミスなどの原因になります。

スマートケミカルを使用すると、すべてのデータが滴定装置のソフトウェア（以下参照）に無線で転送されるため、人的ミスの恐れもなくなります。容量法試薬、カールフィッシャー試薬、およびすべての標準試薬に分析証明書から得た関連情報が記録されたRFID (Radio Frequency IDentification; 近距離無線通信を用いた自動認識技術) タグが埋め込まれています。

表1に、滴定試薬と標準試薬のRFIDタグに記録された情報のリストを示します。滴定装置のSmartReaderと呼ばれる部分をボトル上のスマートケミカルタグ(図1)に短時間接触するだけで、すべての関連情報が滴定装置のソフトウェアに転送されるため、時間の節約、誤りの減少、およびデータ整合性の保証につながります。

安全なデータ整合性が容易に



(次のページへ続く)

スマートケミカルラベル上のRFIDタグにすべての関連データを記録

スマートケミカルのラベル上のRFIDタグ(図1)には、製品名、カタログ番号、ロット／バッチ番号、濃度／純度、リリース日、有効期限／使用期限など、滴定装置のソフトウェアに転送して方法を実行し、結果を計算して文書化するのに必要なすべてのデータが保存されています。標準溶液の場合は、薬局方またはISO 17034に従って、分子

量、サプライヤー／メーカー名、不確かさ、およびコンプライアンスを含む追加データが転送されます(表1)。

RFIDから滴定装置に転送された情報はソフトウェアに格納され、タッチスクリーン上に表示されます(図2、3)。

図1 滴定装置のRFIDリーダー、およびスマートケミカルラベルの例(RFIDタグにマーク)

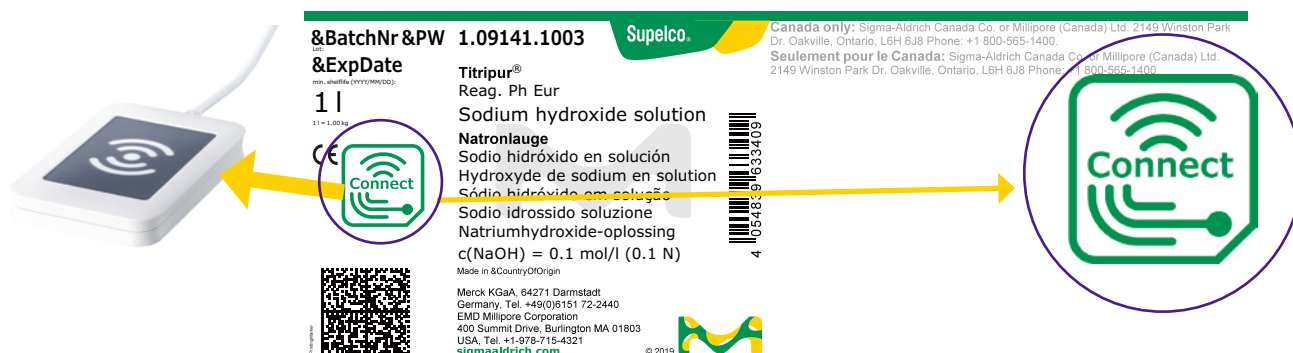


図2 ソフトウェアに表示される滴定試薬の情報

Titrant parameter		Tasks
Setup » Chemicals » Titrants » Parameters		
Type	General titration	
Name	HClO ₄	ABC
Concentration	0.1 mol/L	123
Titer	1	123
Determination method	SmartChemical	i
Date / Time	12/18/2018 12:00:00 am	i
Cancel Print Read SmartChemical Save		

Titrant parameter		Tasks
Setup » Chemicals » Titrants » Parameters		
Performed by	Merck KGaA, Darmstadt, Ge...	i
Monitoring usable life	☐	
Monitoring life span	☐	
Monitoring shelf life	☒	
Shelf life	12/31/2021 11:59:59 pm	i
Lot/Batch	HX88235965	ABC
Cancel Print Read SmartChemical Save		

Titrant parameter		Tasks
Setup » Chemicals » Titrants » Parameters		
Lot/Batch	HX88235965	ABC
Container ID	0	123
Article number	1.09065.1003	ABC
Fill rate	100 %	123
Burette volume	10 mL	
Drive	1	
Cancel Print Read SmartChemical Save		

図3 ソフトウェアに表示される標準試薬の情報

Titer standard parameter		Tasks
Setup » Chemicals » Concentration and titer standards » Parameters		
Type	solid	
Name	Potassium hydrogen phthalate	ABC
Purity	100.00 %	123
M	204.222 g/mol	123
Equivalent number	1	123
Lot/Batch	182400C	ABC
Cancel Print Read SmartChemical Save		

Titer standard parameter		Tasks
Setup » Chemicals » Concentration and titer standards » Parameters		
Container ID	0	123
Article number	1.02400.0080	ABC
Supplier	Merck KGaA, Darmstadt, Ge...	ABC
Compliance	USP & Ph. Eur.	
Uncertainty	0.05 %	123
Date / Time	07/02/2018 12:00:00 am	i
Cancel Print Read SmartChemical Save		

Titer standard parameter		Tasks
Setup » Chemicals » Concentration and titer standards » Parameters		
Uncertainty	0.05 %	123
Date / Time	07/02/2018 12:00:00 am	i
Performed by	Merck KGaA, Darmstadt, Ge...	i
Monitoring usable life	☐	
Monitoring expiry date	☒	
Expiry date	12/31/2022 11:59:59 pm	i
Cancel Print Read SmartChemical Save		

以前に開封した試薬も認識され、初回開封日をRFIDタグに記録、計器のタッチスクリーン上に表示されます。有効期限が切れた試薬は自動的に使用できなくなり、測定値が不適合になることを防ぎます。さらに、開封後の使用期間に関するユーザー固有のガイドラインを設定し、個々の使用期間をソフトウェアに入力してモニターできます。

表1 RFIDデータの内容

SmartTitrant	SmartStandard
Name	Name
Concentration	Concentration/Purity
Article number	Article number
Lot/Batch no.	Lot/Batch no.
Shelf life	Expiry date
Initial opening date	Initial opening date
Date of release (Date / Time)	Date of release (Date / Time)
	Molecular weight
	Compliance
	Uncertainty

スマートケミカルは以下のメトラート社製計器で使用方法が可能です



- Excellence TitratorモデルT5、T7、T9
- Compact TitratorモデルG10S、G20S、V30S、V20S、V10S.

結論

ラベルにRFIDタグが付いたスマートケミカルの特長

- 安全なデータ転送 — 完全かつ正確な試薬データを保証
- 使いやすさ — 直感的な操作とワンタッチでの便利なデータ転送
- 拡張された品質管理 — 力価測定、有効期限、コンプライアンスデータ、初回開封日
- 効率向上 — 高速データ転送により手書きと人によるダブルチェックが不要になり、時間を節約

スマートケミカル製品

製品名	カタログ番号
Titripur® 容量滴定用試薬	
Perchloric acid in acetic acid 0.1mol/L, 1L	1.09065.1003
Potassium hydroxide solution in ethanol 0.5mol/L, 1L	1.09114.1003
Potassium hydroxide solution in ethanol 0.1mol/L, 1L	1.09115.1003
Hydrochloric acid solution 0.1mol/L, 1L	1.09060.1003
Sodium hydroxide solution 0.1mol/L, 1L	1.09141.1003
Sodium thiosulfate solution 0.1mol/L, 1L	1.09147.1003
Sodium thiosulfate solution 0.1mol/L, 4 L Titripac®	1.09147.4003
Certipur® 容量滴定用標準試薬 (CRMs)	
Potassium hydrogen phthalate, Certified Reference Material, 80g	1.02400.0083
Benzoic acid, Certified Reference Material, 60g	1.02401.0063
TRIS(hydroxymethyl)aminomethane, Certified Reference Material, 80g	1.02408.0083
Zinc, Certified Reference Material, 100g	1.02409.0103
Aquastar® カールフィシャー試薬	
CombiTitrant 5, Karl Fischer one component reagent 5mg H ₂ O/mL, 1L	1.88005.1003
Titrant 5, Karl Fischer two component reagent 5mg H ₂ O/mL, 1L	1.88010.1003
Titrant 5, Karl Fischer two component reagent 5mg H ₂ O/mL (for North America only), 1L	1.88010.1043
CombiTitrant 2, Karl Fischer one component reagent 2mgH ₂ O/mL, 1L	1.88002.1003
CombiTitrant 2, Karl Fischer one component reagents 2mg H ₂ O/mL, 1L (for North America only)	1.88002.1043
Aquastar® 水標準物質 (CRMs)	
Water Standard 1% in ampoules, Certified Reference Material, 10x8mL	1.88052.0013
Water Standard 1% in ampoules (for North America only), Certified Reference Material, 10x8mL	1.88052.0313
Water Standard 0.1 % in ampoules, Certified Reference Materials, 10x8mL	1.88051.0013
Water Standard 0.1 % in ampoules (for North America only), Certified Reference Material, 10x8mL	1.88051.0313

* 当社のスマートケミカルのカタログ番号は、最後の桁の数字が0から3に変わった以外は既存の製品と同じです。例えば、RFIDタグ付きSmartChemicalは1090651000が1090651003になります。

スマートケミカルのラインアップは順次増やして参ります。

最新のリストについては

SigmaAldrich.com/SmartChemicalsをご覧ください。

当社滴定製品の完全なポートフォリオについては、**SigmaAldrich.com/Titration**をご覧ください。

滴定のデジタル化 II

3S試薬 — 安全性と信頼性が向上した滴定分析

Bettina Straub-Jubb, Product Manager Titration, Analytix@milliporesigma.com

3S **afe**
mart
ecure

3S試薬 — 安心 (Safe)、スマート (Smart)、安全 (Secure)

Metrohm社製OMNIS滴定プラットフォームによる容量滴定用

化学消耗品向けのエンドツーエンドソリューション: RFID技術を用いたデータの自動転送により、試薬が3Sアダプター技術によって計器に接続されるようになりました。



ボトルの安全な開栓

安全性の向上 — 独自の開栓メカニズムで汚染リスクを最小化

スマートなデータ転送

使いやすさの向上 — 試薬と計器ソフトウェア間の自動通信

セキュアなデータ転送

品質の向上 — DRFID技術を用いたデータ転送によって入力ミスがなくなります



利点

- 3Sキャップで密閉された、すぐに使用できる滴定液
- 独創的なシールによる独自の開栓メカニズム
- ボトルに入った試薬に関する全情報をキャップ上のRFIDチップに格納
- キャップと一体化された衝撃吸収機能付きのカートリッジ
- ボトルと一体化された吸引チューブ



製品名	容量	カタログ番号
Cerium(IV) sulfate solution 0.1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50693.1000
Hydrochloric acid solution 0.1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50677.1000
Hydrochloric acid solution 1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50696.1000
Iodine solution 0.05mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50690.1000
Perchloric acid solution 0.1mol/L in glacial acetic acid for 3S adapter technology	1L	1.50695.1000
Silver nitrate solution 0.1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50689.1000
Sodium hydroxide solution 0.1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50705.1000
Sodium hydroxide solution 1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50706.1000
Sodium thiosulfate solution 0.1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50691.1000
Sulfuric acid solution 0.25mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50692.1000
Titriplex III solution 0.1mol/L for 3S adapter technology	1L	1.50711.1000

詳細と当社のインストラクションについては、
SigmaAldrich.com/3Sをご覧ください。

抽出物、浸出物 (E&L) 試験のための標準物質

Matthias Nold, Product Manager Reference Materials, Analytix@milliporesigma.com



抽出物および浸出物 (E&L) は、包装材料やチューブ、医療機器などから医薬品や臨床製品へ移行し、結果的に患者への暴露につながる可能性がある化合物です。

医薬品と医療機器の製造業者は、広範なE&L調査を実施して製品中に溶出する可能性がある化合物を特定し、必要に応じてそれらの化学物質の毒性を評価することが義務付けられています。

何が移行するかを完全に予測できるわけではないため、ひとつも見逃さないことが極めて重要です。包装材料の性質、製品、および適用条件によって、未知の化合物や予期しない物質が見つかるこ

とがあるため、対象物質のリストを限定することはできません。しかし、抽出物&浸出物の調査においてよく検出される特定のモノマーや添加剤があることはわかっています。

抽出物と浸出物をかんたんに定性・定量するために、Supelcoでは標準物質の包括的なポートフォリオを提供しています。一般的によく見られる抽出物と浸出物の、100種類を超える認証標準物質 (CRM) と標準物質、標準試薬のリストについては、下記からご覧いただけます。

単一成分のリストはこちらから

[SigmaAldrich.com/extractablesandleachables](https://www.sigmaaldrich.com/extractablesandleachables)

Supelcoでは、以下のリストに示す16種類の一連の新しい標準物質をこの取扱製品に追加しました。これらの新製品は、ISO/IEC17025に従って定量NMR (qNMR) で測定したNIST SRMトレーサブルの値と物質の安定性と均質性、不確かさを付与した標準物質 (RM) として提供します。

また、抽出物と浸出物の調査で一般的によく見つかる化合物群をカバーする、LCおよびGC用認証標準物質 (CRM) 混合溶液も開発しました。詳細は以下のウェブサイトからご確認ください。

抽出物、浸出物 (E&L) 試験のための標準物質ウェブサイト

<https://bit.ly/e-and-l>

新製品 抽出物および浸出物測定用標準物質 (梱包サイズ:100mg)

製品名	同意名・略名	CAS RN®	カタログ番号
Pentaerythritol tetrakis(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyhydrocinnamate)	Irganox 1010 (Ir 1010)	6683-19-8	96656
Octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate	Irganox 1076 (Ir1076)	2082-79-3	00318
2-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)benzotriazol	Dometrizol (Dome)/Tinuvin P	2440-22-4	96697
ε-Caprolactam	CAP	105-60-2	01483
Dibenzylamine	DBA	103-49-1	95728
2-Mercaptobenzothiazole	2-MBT	149-30-4	96051
Bis[4-(glycidioxy)phenyl]methane, mixture of isomers	Bisphenol F diglycidylether (BPFE)	2095-03-6	96142
Bis(4-chlorophenyl) sulfone	CPS	80-07-9	96153
3,5-Di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl alcohol	2,6-Di-tert-butyl-4-hydroxymethyl-phenol (DBOHP)	88-26-6	96857
1,3-Di-tert-butylbenzene	DBB	1014-60-4	96659
Oleamide	Ole	301-02-0	96709
cis-13-Docosenoamide	Erucamide (Eruca)	112-84-5	01374
Tris(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl) isocyanurate	Irganox 3114 (Ir3114)	27676-62-6	96737
Tris(2,4-di-tert-butylphenyl)phosphate	Irgafos 168-oxide	95906-11-9	96839
2,4-Di-tert-butylphenol		96-76-4	00437
2,6-Di-tert-butylphenol		128-39-2	96852

医薬品分析のための標準物質ポータルサイトはこちら

<https://bit.ly/pharma-rm>

不純物検査の効率を向上

医薬品分析に使用する不純物/類縁物質 混合溶液

Nick Hauser, Product Manager Reference Materials, Analytix@merckgroup.com

医薬品の安全性を確保するには、医薬品の活性成分 (API) を検査する必要があります。製薬原料と医薬品中の不純物を正確に検出して管理することはICHおよびGMP要件の必須要素です。多くの場合、これらの不純物の標準物質は見つけるのが困難であるか、または極めて高価です。医薬品品質管理 (QC) 研究室では、APIとこのような関連物質を毎日または毎週秤量して目的物質の多成分を混合した標準原液またはワーキングスタンダードを作製します。このような手間がかかる作業により、調整によるミスや作業者間の誤差などが発生する恐れがあり、類縁物質や不純物などの貴重な試薬をさらに多く費やしてしまう場合もあるのではないのでしょうか。

Supelcoの新製品である、医薬品不純物混合溶液により、APIとその関連する不純物が1つの混合溶液として提供され、コストと労力の両方を節約することが可能です。

これらの不純物溶液は、ISO 17034とISO/IEC 17025の認証のもと製造した認証標準物質 (CRM) です。

安定性試験は、氷点下冷凍庫、冷凍、冷蔵、室温、および40°Cの条件で数週間にわたって実施し、分析対象物質の相互作用や分解等の確認をしました。必要に応じて個々の物質を混合液から除き、安定性を向上させる条件を用いて単成分溶液として製造を行っています。これらの単成分溶液は、試料の取り扱いを最小限に抑えて既存の混合液と混ぜ合わせるのに便利な濃度で製造されます。

また、褐色アンブルにアルゴン封入しているため、材料が空気、光、および濃度変化から保護されます。

これらの溶液製品のもう1つの特徴は、出発物質として使用される

原料が医薬品二次標準物質であることです。これらの二次標準物質は認証標準物質 (CRM) として製造され、対応する薬局方標準物質にトレーサブルです。

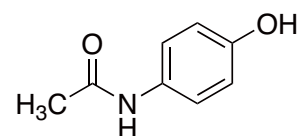
これらの製品は、標準原液やワーキングスタンダード溶液として使用することが可能です。

表1に、薬局方モノグラフにある分析に必要な成分からなる、アセトアミノフェン不純物混合液:**A-134**、4'-アセトキシアセトアニリド (アセトアミノフェンRC A) 溶液:**A-135**、4-アミノフェノール (アセトアミノフェンRC K) 溶液:**A-136**、および4-クロロアセトアニリド (アセトアミノフェンRC J) 溶液:**C-166**を組み合わせた組成を示します。化合物の構造については図1をご覧ください。

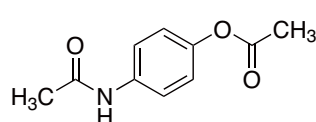
表1 アセトアミノフェン不純物のポートフォリオ (カタログ番号 A-134、A-135、および A-136を組み合わせたもの)

Component	USP Related Compound (RC)	EP Impurity
Acetaminophen	-	-
4-Acetoxyacetanilide	A	H
N-(4-Hydroxy phenyl)propanamide	B	B
2-Acetamidophenol	C	A
Acetanilide	D	D
4-Nitrophenol	F	F
4-Chloroacetanilide	J	J
4-Aminophenol	-	K

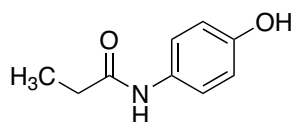
図1 アセトアミノフェン不純物の化学構造



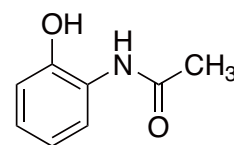
Acetaminophen



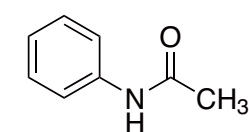
4'-Acetoxyacetanilide



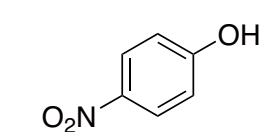
N-(4-Hydroxyphenyl)propanamide



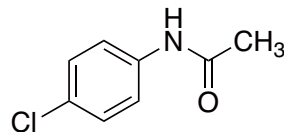
2-Acetamidophenol



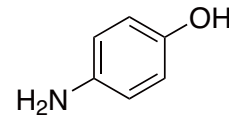
Acetanilide



4-Nitrophenol



4'-Chloroacetanilide



4-Aminophenol

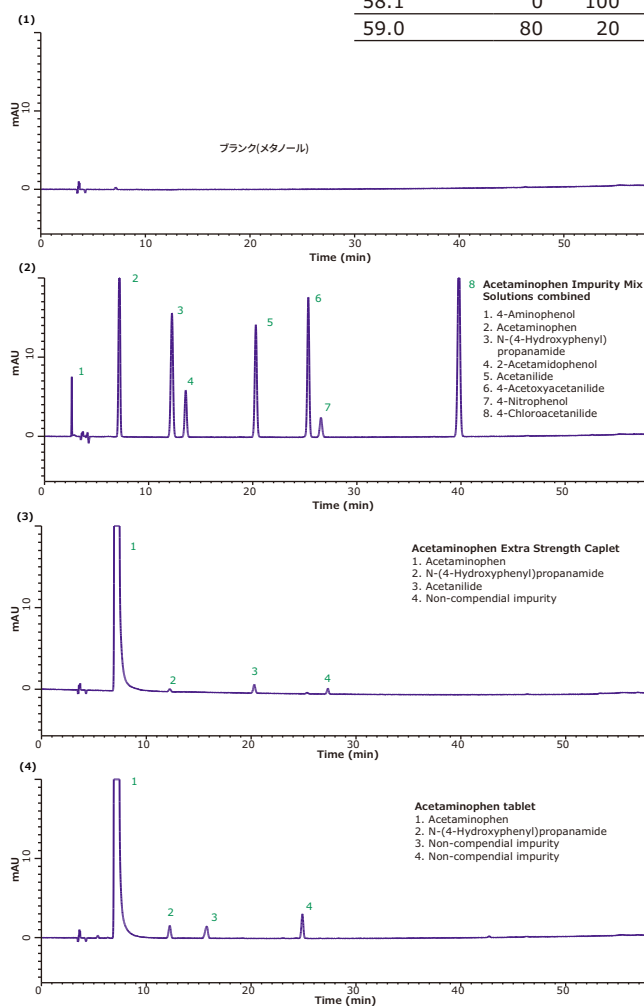
図2に、1つの試料溶液として混合したアセトアミノフェンと関連化合物溶液 (成分の構造については図1を参照) のクロマトグラムの例と、分析対象である2つの異なる錠剤タイプを示します。

図2 HPLC-UV analysis of a blank (1), the combined Acetaminophen impurities (Cat.Nos. A 134, A 135, A 136) (2), an extra strength over the counter tablet (3), and a regular strength over the counter tablet (4)

カラム:	Discovery® C8, 25 cm x 4.6mm I.D., 5µm (59354-U)
移動相:	[A]: Methanol, Water, glacial acetic acid (50:950:1) [B]: Methanol, Water, glacial acetic acid (500:500:1)
流速:	0.9mL/min
カラム温度:	40 °C
検出器:	UV, 254 nm
注入量:	5 µL
サンプル:	Blank – methanol. Mixture of Acetaminophen impurity mix (A-134), 4'-Acetoxyacetanilide (Acetaminophen RC A) solution (A-135), and 4-Aminophenol (Acetaminophen RC K) solution (A-136), 20.8µg/mL each individual compound in methanol. Extra and regular strength tablets 25mg/mL in methanol.

グラジエント条件

Time (min)	%A	%B
0.0	80	20
8.0	80	20
53.0	0	100
58.1	0	100
59.0	80	20



医薬品不純物の認証標準溶液と認証混合標準物質*
(各容量1mL)

製品名	濃度 (µg/mL)	カタログ番号
Acetaminophen (Paracetamol) Impurity Mix	25	A-134
4'-Acetoxyacetanilide (Acetaminophen RCA)	250	A-135
4-Aminophenol (Acetaminophen RCK)	250	A-136
4-Chloroacetanilide (Acetaminophen RCJ)	250	C-166
Aspirin Impurity Mix	100	A-143
Acetylsalicylic Anhydride (Aspirin Impurity F)	100	A-155
Bupropion Impurity Mix	100	B-082
Bupropion System Suitability Mix	12-20	B-069
Caffeine Impurity Mix	0.4-2.0	C-175
6-Amino-1,3-dimethyl-5-(formylamino) uracil (Caffeine Impurity B)	40	C-194
Caffeine Impurity E Nitrate	100	C-195
Chlorpheniramine Impurity Mix	50	C-193
Chlorpheniramine Impurity C	50	C-197
Fluconazole Impurity Mix	10	F-051
Furosemide Impurity Mix	5	F-052
Fluticasone Impurity Mix	20	F-061
Guaifenesin Impurity Mix	500-1000	G-022
Ibuprofen Impurity Solution	25	I-036
(2RS)-2-(4-butylphenyl)propanoic acid (Ibuprofen Impurity B)	100	I-037
Lidocaine Impurity Mix	20-200	L-048
Metformin Impurity Mix	50	M-195
Cyanoguanidine (Metformin Related Compound A)	50	M-196
Nevirapine Impurity Mix	15-30	N-116
Omeprazole Impurity Mix	60	O-048
Parabens Impurity Mix	50	P-125
Pyridoxine Impurity Mix	50	P-126
Pramipexole Organic Impurity System Suitability Mix	15-37.5	P-141
Pramipexole Chiral System Suitability Solution	10	P-140
Riboflavin Impurity Mix	90	R-029
Salicylic Acid Impurity Mix	10-500	S-100
Thiamine Impurity Mix	100	T-134

*The content of a mix (compound listing) and the CRM's solvent can be

医薬品のAPIと不純物/類縁物質 (未希釈と溶液) のリストは下記をご覧ください

<https://bit.ly/pharma-imp>

医薬品分析のための標準物質ポータルサイトはこちら

<https://bit.ly/pharma-rm>

不純物/類縁物質分離にオススメの
HPLCカラムは右記QRコードへ



QuEChERS抽出とクリーンアップを用いた、オレゴンリストにおける大麻の残留農薬分析

Katherine K. Stenerson, Principal R&D Scientist, katherine.stenerson@milliporesigma.com

緒言

現在、米国の33の州とコロンビア特別区では、何らかの形態の大麻および／または大麻ベースの製品を消費することが合法化されています。これらの州の多くは植物材料と植物製品の検査を義務付けていますが、具体的な検査方法と対象化合物のリストが常に指定されているわけではありません。2016年10月、オレゴン州は大きな一歩を踏み出し、すべての大麻検査機関がオレゴン環境研究室認証プログラム (ORLEP) の認証を受け、オレゴン酒類管理委員会 (OLCC) からライセンスを受けることを義務付けました¹。その結果、マリファナ試料中にある、試験すべき特定の汚染物質と対策レベルのリストがオレゴン行政規則 (OAR) に含まれました²。このリストにある農薬には、カーバメート系、有機リン系、マクロライド系、ネオニコチノイド系、ピレスロイド系、トリアゾール系殺菌剤などが含まれています。OARによれば、対策レベルは個々の農薬によって0.2～1µg/gの範囲で異なります。さらに、嗜好用大麻を2016年に合法化したカリフォルニア州では、OARにあるリストと同様の農薬の他に8種類の農薬の検査を義務付けています³。

迅速 (Quick)、簡単 (Easy)、安価 (Cheap)、効率的 (Effective)、堅牢 (Rugged)、安全 (Safe) の頭文字を取ったQuEChERS法は使いやすく幅広い農薬に適用できるため、多くの検査機関が大麻に使用しています。抽出後、色素やその他の汚染物質を除去するためのクリーンアップステップをすることが重要です。多くの場合、これには第1級・2級アミン (PSA)、C18、およびグラファイトカーボンブラック (GCB) を混合したQuEChERSクリーンアップが選択されます。PSAは酸性干渉を、C18は疎水性干渉を除去し、GCBはいくつかの色素、特にクロロフィルによって生じる緑色を保持します。したがって、これら混合吸着剤は幅広い汚染物質を保持しますが、C18の疎水性保持の影響を受けやすい対象農薬や、GCBに強く保持される平面構造を持つ対象農薬 (プランナー農薬) は回収率が低下する恐れがあります。筆者が2015年に行った大麻に関する研究では、様々な農薬分析のクリーンアップで、Supel™ QuE Verdeを評価し、バックグラウンドの低減と農薬回収率を向上させる事ができました⁴。この混合吸着剤にはPSA、Z-Sep+、およびENVI-Carb Yが含まれています。Z-Sep+はC18官能基が付いたジルコニアコート化シリカです。ジルコニアはルイス酸／塩基相互作用による保持力があり、ある

種の脂溶性化合物やいくつかの色素を保持することが分かりました。ENVI-Carb Yは、ある種の農薬など、平面的な小分子の保持力を弱めるように特別に設計されたグラファイトカーボンです。この混合吸着剤は、従来のPSA/C18/GCBより色素除去と農薬回収率のバランスに優れています。本アプリケーションでは、2015年に検査した農薬のリストに上記OARリストにある農薬の多くを含めて拡張しました。クリーンアップではSupel QuE VerdeとPSA/C18/GCBを直接比較し、大麻植物原料の添加複製物はLC-MS/MSとGC-MS/MSで測定しました。LC-MS/MSに用いるカラムと移動相は、以下に記述する様々な要素を考慮して選択しました。OARリストに追加した農薬では、PSA/C18/GCBよりSupel QuE Verdeの方が全体的に回収率が良好でした。

実験

抽出

乾燥大麻*をIKA T10 Ultra Turraxミキサーで粉碎し、1.9gを量って50mLの遠心管に入れ、農薬を50ng/gで添加しました。10分間なじませた後、10mLの脱イオン水を試料に混ぜて30分間静置しました。10mLのアセトニトリルを加えて試料を2500rpmで30分間振盪しました。Supel™ QuE Citrateチューブ (55227-U) の内容物を加えて試料を1分間振盪したのち、5000rpmで5分間遠心分離し、上澄みを分取してクリーンアップに回しました。

*乾燥大麻は、米国国立衛生研究所国立薬物乱用研究所の化学・生理学システム研究部門プログラムディレクターであるHari H. Singh博士のご厚意により提供いただきました。

クリーンアップ

クリーンアップ用吸着剤が入った2mLの試験管に1mLの抽出液を加えました。吸着剤には以下の2種類を用いました。

1. PSA/C18/GCB/MgSO₄ (400mg/400mg/400mg/1200mg)
2. Supel QuE Verde (55447-U)

試料を1分間振盪したのち5000rpmで3分間遠心分離、上澄みを分取して分析に供しました。

分析

LC-MS/MSとGC-MS/MSにより、表1と2に示す条件で試料を分析しました。いずれの装置でも同じ抽出物を用いました。LC-MS/MSでは検出されない農薬は、GC-MS/MSによる分析を試みました。定量は、非添加の大麻抽出物で作成した5点マトリックスマッチド校正曲線を用いました。クリーンアップごとに別の曲線を作成しました。内部標準は用いなかったため、報告した回収率はいずれも絶対値です。

結果および考察

HPLCカラムと移動相の選択: 検査機関が分析する代表的な大麻試料には高レベル(多くの場合、20~25%の範囲)のカンナビノイド類が含まれています。これらの化合物は、QuEChERSプロセス中に農薬と共抽出されます。その酸性体はいくつかのクリーンアップ吸着剤(特に、PSAとZ-Sep+)によって部分的に保持できますが、中性体は農薬検査に用いるクリーンアップ吸着剤ではうまく保持されません。LC-MS/MS分析の場合、共抽出されたそれらのカンナビノイド類が検出器上に蓄積する可能性があるため、装置をさらに頻繁に保守

表1 LC-MS/MS条件

カラム:	Ascentis® RP-Amide, 10 cm x 2.1mm I.D., 3.0µm (565301-U) with RP-Amide Supelguard cartridge, 2 cm x 2.1mm I.D., 5µm (565372-U)
移動相:	[A] 5 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in 95:5 water:acetonitrile; [B] 5 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in 5:95 water:acetonitrile
グラジエント:	10 % B held for 1 min; to 100 % B in 13 min; held at 100 % B for 6 min; to 10 % in 0.5 min; held at 10 % B for 6 min
流速:	0.4mL/min
カラム温度:	30 °C
検出器:	MRM*
注入量:	5 µL
サンプル:	QuEChERS extract in acetonitrile

表2 GC-MS/MS条件

カラム:	SLB®-5ms, 20 m x 0.18mm I.D., 0.18µm (28564-U)
オープン:	50 °C (2 min), 8 °C/min to 325 °C (10 min)
注入口温度:	250 °C
キャリアーガス:	helium, 1.2mL/min constant flow
検出器:	MRM*
MSD interface:	325 °C
注入:	1 µL, pulsed splitless (50 psi until 0.75 min, splitter open at 0.75 min)
ライナー:	4mm I.D. FocusLiner with taper

*see online version of article on SigmaAldrich.com/Analytix (Issue 5) for MRM listing

する必要があります。本アプリケーションでのカラムと移動相は、カンナビノイド類の溶出をプロセス内でできるだけ(理想的には農薬の後まで)遅らせる条件に基づいて選択しました。この条件では、最後の農薬溶出後にLC-MS/MS装置の誘導弁をドレインに設定できます。そうすれば、カンナビノイド類の大半は検出器に入りません。

適切なHPLC条件を得るために、様々な異なる化学特性のカラムでアセトニトリルおよびメタノールベースのグラジエントを用いたスクリーニング実験を考案し、対象農薬と比較した主なカンナビノイド類の溶出を調査しました。スクリーニングしたカラムは以下のとおりです。

1. Ascentis® Express C18
2. Ascentis® Express RP-Amide
3. Ascentis® Express Phenyl-Hexyl
4. Ascentis® Express Biphenyl
5. Ascentis® Express F5

カラムはすべて10cm×2.1mm、粒子は2.7µmでした。最初は分析効率、スピードを求めて、Ascentis® Express Fused-CoreのHPLCカラムを選択しました。HPLC条件は表1にあるものと同様でしたが、検出にUVを用い、移動相から酸アンモニウムを除きました。QuEChERS抽出に由来する試料をエミュレートするために試料を100%アセトニトリルに注入しましたが、最初に溶出した農薬のピーク形状は、予想通り5つのカラムすべてで芳しくありませんでした。アセトニトリルグラジエントを用いた時の農薬とカンナビノイドの溶出領域のオーバーラップ量は、Ascentis® Express RP-Amideで最小になりました。また、アセトニトリルとメタノールを比較すると、アセトニトリルをグラジエントで用いる方が農薬の溶出が速く、カンナビノイド類とのオーバーラップが少なくなりました。

方法をできるだけ簡素化するために、同じQuEChERS抽出液をHPLCとGCの両方で分析しました。しかし、カラムスクリーニング実験で以前に示したように、グラジエントにおいて高い水分開始条件に100%アセトニトリルを注入したとき、初期に溶出した農薬のピーク形状は芳しくありませんでした。これらの化合物のピーク形状を改善するために、2.7µmのAscentis® Express RP-Amideに代えて3µmのAscentis® RP-Amideを用いました。ガードカラムを接続したところ、保持時間が延びて試料と移動相の混合状態が改善されたため、ピーク形状はさらに良くなりました。(クロマトグラムについては、SigmaAldrich.com/analytix (第5号)にあるオンライン版記事をご覧ください) また、高バックグラウンドの試料を扱うときもガードカラムを用いて分析カラムの寿命を延ばすことを強く推奨します。

(次のページへ続く)

バックグラウンドの減少

PSA/C18/GCBとVerdeでクリーンアップする前とした後の大麻抽出物の比較を図1に示します。予想通り、共抽出されたクロロフィルによって濃い緑色の抽出物が生成されました。クリーンアップ後は緑色の大半が除去され、抽出物は黄色っぽく見えます。Verdeでクリーンアップした抽出物の方が、PSA/C18/GCBでクリーンアップしたものよりやや濃い色を呈しました。GC/MSによる抽出物におけるフルスキャンモードでの分析結果を図2に示します。データは、クリーンアップしていない抽出物とした抽出物(いずれのクリーンアップでも)のピークパターンが似ていることを示していますが、バックグラウンドピークの振幅は異なります(網掛け領域で示します)。これらの領域で溶出された主なピークはテルペン(早い方)とカンナビノイド類(遅い方)です。各クロマトグラムの全ピーク面積を合計してバックグラウンド全体の減少を比較しました。クリーンアップしない場合と比較して、VerdeはPSA/C18/GCBよりわずかに良好(バックグラウンド減少率が35%対31%)でした。特に、網掛け領域ではVerdeのピーク振幅の方が低くなりました。

カンナビノイド類の溶出

大麻抽出物の最終LC-MS/MS分析で以前に記述した最適化HPLC条件を用いると、試料中に存在する主なカンナビノイド類の2つとそ

の後で溶出する農薬のオーバーラップが最小であることが分かりました。大麻抽出物のフルスキャンLC/MS分析から取った m/z 314.5のEICを、本分析の対象である農薬のTICと比較して図3に示します。このEICは、試料の抽出液で検出された2つの主なカンナビノイド類であるテトラヒドロカンナビノール(THC)とカンナビジオール(CBD)の分子イオンを示します。この図から分かるように、分析した最後の農薬であるピリダベンhはカンナビジオールの直前に溶出しました。最も豊富に存在するカンナビノイドであるTHCは、かなり経ってから溶出しました。ピリダベン溶出後にカラムへの送液をドレインに切り替えると、CBDの一部とTHCのすべてがMSに流入しないようにできます。その他のカンナビノイド類、特にCBG、CBN、CBDA、CBC、CBGA、およびTHCAAは、RP-Amideカラムの固定相でCBDの後に溶出することが知られています。そのため、これらすべてが大麻試料中に存在していても同様にドレインできます。

農薬回収率

本調査に含まれる農薬はOARリストにある農薬の大半に相当します。このリストにある2つの農薬、アベルメクテンB1aとナレドは検出されなかったため、測定しませんでした。アベルメクテンはナトリウムとカリウムの付加物を形成しやすい性質がありますが、移動相にぎ

図1 クリーンアップ前後の大麻QuEChERS抽出物

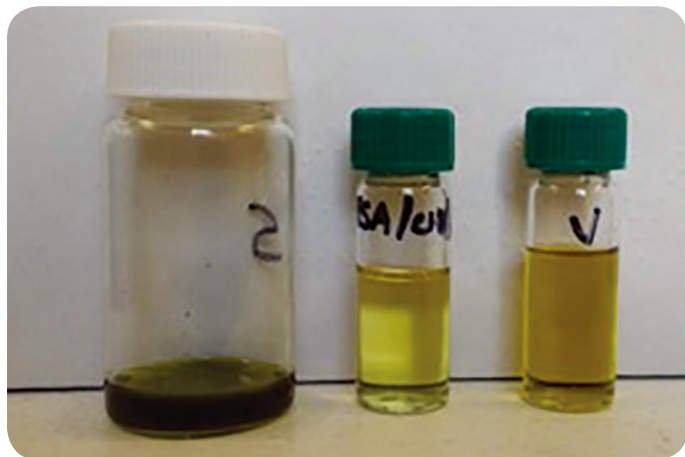


図3 農薬のMRM分析でのTIC(紫色)と比較した、大麻抽出物のフルスキャン分析から得たEIC、 m/z 314.5(緑色)

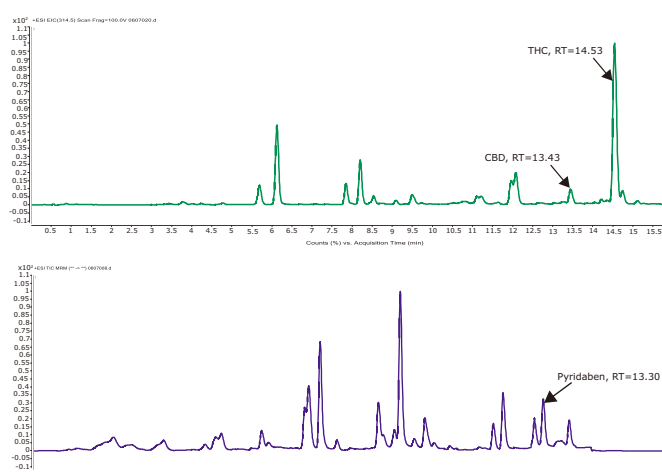
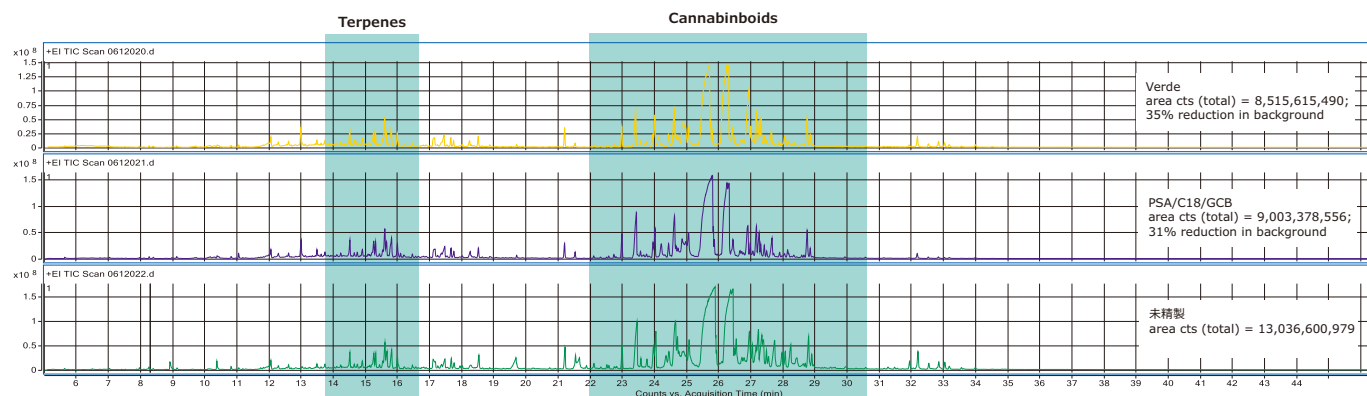


図2 大麻抽出物のGC/MSスキャン比較

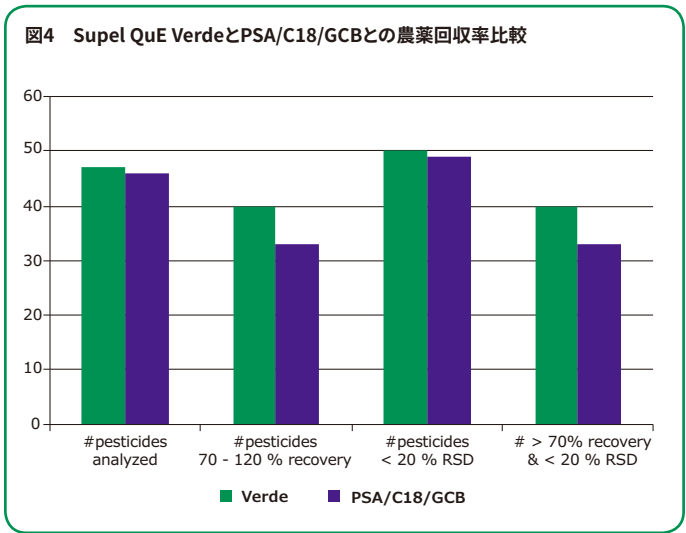


酸アンモニウムが存在するとこれが起きにくくなります(アンモニウム付加物としてモニターされるため)。しかし、これらの対策を施してもこの化合物の低レベル検出に問題があるとの報告があります^{4,5}。ナレドはPSAに吸着しやすいため、いずれの吸着剤でもクリーンアッププロセスを完了できませんでした。

2つのクリーンアップ法におけるデータを比較すると(図4)、Supel QuE Verdeの方がPSA/C18/GCBより全体的に優れた性能を示しました。いくつかの農薬(表3)、特にビフェントリン、クロラントラニプロール、クロフェンテジン、フェンピロキシマート、フルジオキシニル、およびヘキシチアゾクスは、Verdeを用いた方が優れた回収率を示しました。これらはいずれも完全な平面構造を持っているわけではありませんが、PSA/C18/GCBを用いた場合は、Supel QuE Verdeに用いられる炭素より大きな表面積を持つGCBの疎水性保持機能によって回収率が低下したと推察できます。

表3 50 ng/gを添加した複製の回収率と再現性のまとめ

Cleanup:	Verde		PSA/C18/GCB		Analysis
	% Rec	% RSD	% Rec	% RSD	
Acephate	72%	12%	82%	6%	LC
Acetamiprid	87%	5%	86%	0.9%	LC
Aldicarb	85%	15%	82%	7%	LC
Azoxystrobin	90%	4%	88%	2%	LC
Bifenazate (D 2341)	50%	6%	50%	2%	LC
Bifenthrin*	74%	4%	57%	9%	GC
Boscalid (Nicobifen)	85%	3%	82%	5%	LC
Carbaryl	87%	7%	87%	2%	LC
Carbofuran	89%	5%	88%	2%	LC
Chlorantraniliprole	87%	6%	72%	1%	LC
Chlorfenapyr	72%	3%	69%	16%	GC
Chlorpyrifos*	87%	5%	71%	5%	GC
Clofentezin	77%	6%	58%	4%	LC
Cyfluthrin*	72%	6%	112%	11%	GC
Cypermethrin*	77%	16%	49%	25%	GC
Daminozide	4%	45%	3%	64%	LC
Diazinon*	92%	3%	88%	10%	GC
Dichlorvos	31%	23%	matrix		LC
Dimethoate	87%	4%	86%	0.4%	LC
Ethoprop (Ethoprophos)	82%	3%	81%	3%	LC
Etofenprox	59%	15	55	8	GC
Etoxazole	76%	2%	69%	2%	LC
Fenoxycarb	85%	6%	84%	2%	LC
Fenpyroximate(E)	74%	3%	59%	2%	LC
Fipronil*	94%	5%	86%	2%	GC
Flonicamid	86%	11%	88%	3%	LC
Fludioxonil	78%	5%	61%	12%	GC
Hexythiazox	72%	3%	63%	4%	LC



Cleanup:	Verde		PSA/C18/GCB		Analysis
	% Rec	% RSD	% Rec	% RSD	
Imazalil (Enilconazole)	49%	5%	66%	2%	LC
Imidacloprid	88%	4%	86%	2%	LC
Kresoxim methyl	84%	13%	79%	7%	LC
Malathion	84%	5%	73%	6%	LC
Metalaxyl	88%	4%	87%	2%	LC
Methiocarb (Mercaptodimethur)	88%	6%	82%	2%	LC
Methomyl	89%	5%	88%	2%	LC
MGK-264	81%	2%	75%	5%	GC
Myclobutanil	87%	3%	88%	2%	LC
Oxamyl	89%	4%	95%	2%	LC
Paclobutrazol	77%	3%	85%	0.5%	LC
Permethrin	54%	2%	58%	6%	GC
Phosmet (Imidan)	90%	5%	79%	7%	LC
Piperonyl butoxide	81%	5%	73%	2%	LC
Prallethrin	72%	10%	67%	7%	LC
Propiconazole	73%	7%	79%	7%	LC
Propoxur	89%	5%	87%	1%	LC
Pyrethrin	71%	6%	67%	29%	LC
Pyridaben	68%	5%	62%	1%	LC
Spinosyn A	42%	10%	42%	2%	LC
Spinosyn D	42%	9%	35%	19%	LC
Spirotetramat	75%	1%	76%	1%	LC
Spiromesifen*	80%	5%	61%	12%	GC
Spiroxamine	26%	1%	27%	3%	LC
Tebuconazole	67%	4%	80%	1%	LC
Thiacloprid	87%	5%	86%	1%	LC
Thiamethoxam	87%	5%	86%	3%	LC
Trifloxystrobin	85%	5%	79%	2%	LC

*See reference 4.

いくつかの農薬は、いずれのクリーンアップ法の後でも低い回収率を示しました。

- **ピフェナゼート**: いずれのクリーンアップ後も回収率は約50%でした。ピフェナゼートは、酸化してピフェナゼート-ジアジンになりやすいため⁸、抽出プロセスとクリーンアッププロセスの中でいくらか酸化したと推察されます。
- **ダミノジッド**: いずれのクリーンアップ後も極めて低い回収率を示しました。この化合物はカルボン酸であるため、PSA (いずれのクリーンアップ液にも含まれる) によって保持されます。
- **ジクロルボス**: PSA/C18/GCB抽出液では、マトリックス干渉によりこの農薬の分析が妨げられました。Supel QuE Verdeでクリーンアップした抽出液ではピークは検出できましたが、回収率は低く不安定でした。Verdeを用いたときの回収率が低かったのは、吸着剤のZ-Sep+部分に保持されたためと考えられます。以前、筆者とその他の研究者の両方がジルコニア吸着剤を用いたときに、これと同じ挙動がこの化合物で観察されました⁹。
- **エトフェンプロックス**: これは極めて疎水的な農薬である (log p = 7.1) ため、クリーンアップ吸着剤のC18部分とZ-Sep+部分によって (後者の可能性の方が低いですが) 低い抽出効率/保持力を示したと推察されます。
- **イマザリル**: 比較的極性が高い農薬であり、PSA (いずれのクリーンアップ液にも含まれる) によって保持される恐れがあります。クリーンアップにSupel QuE Verdeやその他のジルコニア吸着剤を用いた他の研究者による報告にもある、農薬回収率問題がこの化合物で観察されました^{9,10}。
- **スピノシンA & D**: C18、炭素、およびジルコニア吸着剤を用いたときに、これらの大きな大環状ラク톤の回収率が低いことが観察されました¹¹。ジルコニアの場合は、QuEChERS抽出時にクエン酸塩緩衝液を用いることによって回収率が向上することが観察されました。これは、おそらく被分析物質がジルコニアから移動するためです⁹。
- **スピロキサミン**: 回収率は極めて低く、いずれのクリーンアップ後でもほぼ同じレベルです。これは、抽出効率に問題があることを示すと考えられます。

結論

オレゴン州で大麻に要求される農薬のリストに含まれる大半を分析するとき、いくつかのポイントを推奨できます。

- QuEChERS法による抽出とクリーンアップを使用できます。分析にはLC-MS/MSとGC-MS/MSの両方が要求されます。
- PSA/C18/GCBの代わりにSupel™ QuE Verdeをクリーンアップに使用できます。いずれのクリーンアップでも抽出液の緑色は薄まりますが、Verdeのバックグラウンドの方がわずかに低いことが分かりました。カンナビノイド類は農薬と共抽出されました。いずれのクリーンアップ後もかなりのレベルが残っていましたが、Verdeの方がわずかに低くなりました。農薬の回収率はVerdeを使用した方が全体的に良く、いくつかの農薬では特に良くなりました。

- C18と比べて、Ascentis RP-Amideカラムでは目標とする農薬と共抽出されたカンナビノイド類の溶出領域間オーバーラップが小さくなりました。この分離により、最後の農薬の溶出後にLC-MS/MS装置のMS検出機へ入らないようにドレインするよう切り替えることができるため、一部のカンナビノイド類がMSに入るることによる汚染を防ぐことができます。
- LC-MS/MS分析では、極性がさらに高い農薬の保持力を高めるために開始移動相条件に高い割合の水が必要でした。その結果、分析サンプルの有機溶媒濃度が100%のまま注入すると、初期の溶出ピーク形状が歪みました。2.7μmのAscentis Express RP-Amideを3μmのAscentis RP-Amide (全多孔性粒子) に切り替えると、このピーク形状が改善されました。
- Ascentis RP-Amideの前にガードカラムを付けると、100%有機溶媒サンプルを注入したときのピーク形状がさらに改善されます。分析用カラムの寿命を延ばすためにも有効です。

参考文献

1. Oregon Health Authority, Oregon Medical Marijuana Program, www.oregon.gov/oha, accessed 6/7/17.
2. Exhibit A, Table 3. Pesticide Analytes and their action levels. *Oregon Administrative Rules 333-007-0400*; Oregon.gov/oha, effective 5/31/2017.
3. Chapter 6. Testing Laboratories. *Section 5719 Residual Pesticides*; Bureau of Cannabis Controls Text of Regulations, CA Code of Regulations, Title 16, Div. 42, pp 107-110.
4. Stenerson, K.; Halpenny, M. *Analysis of Pesticide Residues in Cannabis Using QuEChERS Extraction and Cleanup Followed by GC-MS/MS Analysis*; Supelco Reporter 34.1: 17-19.
5. Kowalski, J.; Dahl, J.H.; Rigdon, A.; Cochran, J.; Laine, D.; Fagras, G., Evaluation of Modified QuEChERS for Pesticide Analysis in Cannabis. *LCGC North America (supplement)* **2017**, May, 8-22.
6. Kinsella, B.; Telepchak, T.J.; Mackowsky, D.; Duncan, D.A.; Fanning, T., Pesticide and Mycotoxin Analysis: Mastering the Complexity of the Cannabis Matrix. *LCGC North America (supplement)* **2017**, May, 33-38.
7. Herrmann, S.S.; Andersen, G.; Poulsen, M.E., *Determination of pesticide residues in maize for livestock feed by GC-MS/MS and LC-MS/MS (QuEChERS method)*; Validation Report 18; European Union Reference Laboratory, EURL for Cereals and Feeding stuff, National Food Institute Technical University of Denmark, December 2014.
8. *Analysis of Bifenazate (sum) by the QuEChERS Method using LC-MS/MS*; EURL-SRM Analytical Method Report, ver. 1, updated 3/17/2017.
9. Morris, B.D.; Schriener, R. B., Development of an automated column solid-phase extraction cleanup of QuEChERS extracts, using a zirconia-based sorbent, for pesticide residue analyses by LC-MS/MS. *J. Agric. Food Chem.* **2015**, 63, 5107-5119.
10. Han, J.; Sapozhnikova, Y.; Matarria, J., Evaluation of a new carbon/zirconia-based sorbent for the cleanup of food extracts in multiclass analysis of pesticides and environmental contaminants. *J. Sep Science* **2016**, 39, 4592-4602.
11. Han, L.; Sapozhnikova, Y.; Lehotay, S.J., Streamlined sample cleanup using combined dispersive solid-phase extraction and in-vial filtration for analysis of pesticides and environmental pollutants in shrimp. *Anal Chimica Acta* **2014**, 827, 40-46.

使用製品

製品名	カタログ番号
SLB®-5ms, 20 m x 0.18mm I.D., 0.18µm	28564-U
Ascentis® RP-Amide, 10 cm x 2.1mm I.D., 3.0µm	565301-U
Ascentis® RP-Amide Supelguard™ guard cartridge 2 cm x 2.1mm I.D., 5µm	565372-U
Supel™ QuE citrate extraction tube	55227-U
Supel™ QuE PSA/C18/ENVI-Carb Tube, 2mL	55289-U
Supel QuE Verde, 2mL	55447-U

関連製品

製品名	カタログ番号
Acetonitrile hypergrade for LC-MS LiChrosolv®	1.00029
Formic acid 98% - 100% for LC-MS LiChropur®	5.33002
Ammonium formate eluent additive for LC-MS	0221

農薬の標準品は以下のwebサイトをご参照ください。
[SigmaAldrich.com/pesticides](https://www.sigmaaldrich.com/pesticides)

農薬標準物質

認証標準物質の
 カタログ請求はこちら

<https://bit.ly/pesticide-jp>



Supelco®
 Analytical Products

色の濃い植物の残農分析に

Supel QuE Verde (QuEChERS) で

- 95%以上の色素除去
- 平面構造を持つ農薬の回収率70%以上

Verde のアプリケーションはこちら



Supelco®
 Analytical Products

卵、鶏肉、マヨネーズにおける フィプロニルとその分解代謝物の GC/MS測定

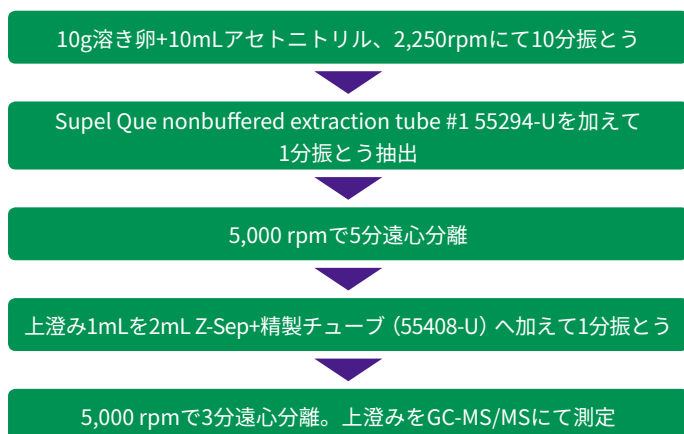
Z-Sep+ を用いたコレステロールなどの脂質成分除去

Katherine Stenerson, Principal R&D Scientist, Analytix@merckgroup.com

フィプロニルは昆虫に対して広い殺虫スペクトルを持つネオニコチノイド系農薬の一つです。これらは (EU) ¹において家畜への使用は禁止されています。フィプロニルの分解代謝物であるフィプロニルスルホンは鳥及びその他の生物に対して、親化合物であるフィプロニルよりも高い毒性が懸念されています²。EU では卵中のフィプロニルとこれらスルホン体の合計5ng/g (0.005ppm) を最大残留基準値としています。

本アプリケーションでは、QuEChERS法を用いた抽出と精製 (図1) を前処理とし、GC/MS/MSを用いて測定しました (表1)。

図1. Z-Sep+を用いたQuEChERS法による抽出と精製



抽出と精製に使用したSupel Que Z-Sep+はコレステロールなど、脂溶性化合物を除去することができます。図2はZ-Sep+で前処理した際の夾雑成分を示しています。フィプロニルとそのスルホン体と同じ保持時間で検出される脂肪酸は、Z-Sep+によって除去され、5ng/mLの濃度においても両化合物の明確なピークが得られました (図3)。表2に回収率と再現性を示します。この方法は鶏肉とマヨネーズにおいても適用可能です。本GC測定の堅牢性は卵サンプルにおいて70回以上の注入後も良好な測定結果を維持しました。

表1. GC-MS/MS条件

カラム:	SLB-PAHms, 30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 µm (28340-U)
オープン:	50 °C (2 min), 15 °C/min to 340 °C (10 min)
注入口温度:	250 °C
キャリアーガス:	helium, 1.2 mL/min, constant
検出器:	MRM, Fipronil: 254.9/228, 350.8/254.8, 366.8/212.8 Fipronil sulfone: 382.8/254.9, 384.8/256.8, 254.9/227.9
注入量:	1 µL, pulsed splitless (50 psi until 0.75 min, splitter on at 0.75 min)
ライナー:	4 mm I.D. FocusLiner with taper



図2. 卵抽出物のGC/MS Full Scan クロマトグラム

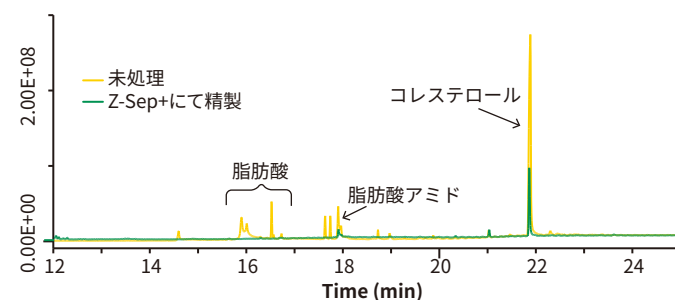


図3. 卵中の5ng/g濃度フィプロニルとフィプロニルスルホンにおけるGC/MS/MS測定

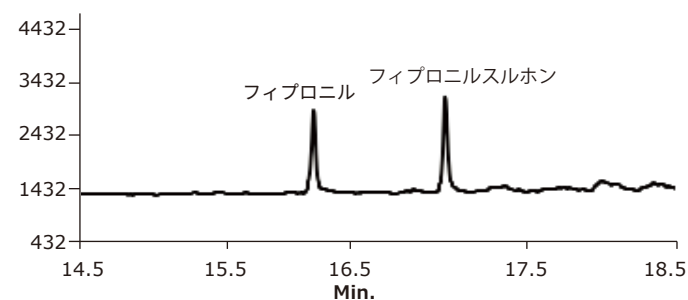


表2. 回収率と再現性 (%Rsd); Spiking Level of 5 ng/g

n=3	卵	鶏肉	マヨネーズ
フィプロニル	91 (0.5)	103 (3)	85 (3)
フィプロニルスルホン	91 (1.8)	116 (2)	87 (4)

本アプリケーションの詳細はこちら

[SigmaAldrich.com/fipronil](https://sigmaaldrich.com/fipronil)

参考文献

1. Fipronil Egg Scandal: What We Know. bbc.com, 8/11/2017 (accessed 8/15/17).
2. Madsen, J.E.; Sandstrom, M.W.; Zaugg, Steven D., Methods of Analysis of the U.S. Geological Survey Nation Water Quality Laboratory-A Method Supplement for the Determination of Fipronil and Degradates in Water by Gas Chromatography/Mass Spectrometry; Open-file report 02-462; U.S.G.S.: Denver, CO, 2003.

使用した製品

製品名	カタログ番号
SLB-PAH ms, 30 m x 0.25 mm I.D., 0.25 µm	28340-U
Supel Que nonbuffered extraction tube #1	55294-U
Supel QuE Z-Sep + Tube, 2 mL	55408-U
Fipronil, certified reference material	16785-50MG
Fipronil Sulfone, Pestanal analytical standard	32333-50MG

インスタントコーヒーの水分測定

By Karl Fischer Titration

Bettina Straub-Jubb, Global Product Manager Titration, Analytix@merckgroup.com



食料品には幅広い種類があります。測定サンプルが炭水化物であるか、脂質であるか、またはタンパク質であるかによって適した分析法は異なります。カールフィッシャー溶媒にゆっくり溶ける複雑なマトリックスや、水分をゆっくりしか抽出できない場合は溶解剤を使用する必要があります。また、加熱しながら滴定したり、ホモジナイザーを使用して水分の放出を加速するのが適切なこともあります。コーヒーはそういった複雑なマトリックスの代表です。

コーヒーは単なる飲料ではない

コーヒーは17世紀には贅沢な食品であり、裕福な人しか買うことができませんでした。しかし、19世紀以降は大量生産製品になって誰もが日常的に飲むようになりました。また、今では重要な貿易製品であると考えられ、ライフスタイル製品にもなりつつあります。消費者の最も大きな関心事はコーヒーが美味しいかどうかです。美味しさを保証するための1つの品質パラメーターは水分量です。コーヒー豆、焙煎したコーヒー、およびインスタントコーヒー中の水分量が豆の焙煎プロセスとコーヒー粉末の品質、風味、および賞味期限に影響するため、この水分定量が重要です。

インスタントコーヒーのカールフィッシャー滴定

インスタントコーヒーには極めて強く結合した水分が含まれています。メタノールでの抽出は極めてゆっくり進みます。容量滴定法によるカールフィッシャー滴定では、ホルムアミドとサリチル酸が存在すると水分の放出が加速されます。サリチル酸は緩衝機能を持ち、pHを適切な範囲に維持します。また、加温条件で滴定したり、ホモジナイザーを使用することも有益です。あるいは、カールフィッシャー水分気化装置を電量滴定法と組み合わせて用いることもできます。水分を放出するには約105°Cの温度が適しています。直接的な電量滴定は推奨しません。

容量滴定法によるカールフィッシャー滴定手順

まず、脱水溶剤をセルに入れて無水滴定を行います。40 mLのAquastar® コンビメタノールまたはAquastar® ソルベントを脱水溶剤として滴定セルに満たし、20 mLのホルムアミドと12 gのサリチル酸を加えます。Aquastar® ソルベントを使用する場合は、滴定液としてAquastar® タイトラント 5を選択します。次に、約0.3～0.5 gのインスタントコーヒー試料を秤量ボートで加えて滴定を開始します。試料の正確な重量は、試料添加前後にボートを計量して記録します。試料を完全に溶解するために3分間攪拌することを推奨します。水分放出を加速するために、ウォーターバスにつないだ二重壁滴定セルを使用して脱水溶剤を50°Cに加熱することもできます。コーヒーの粒子が大きすぎるときは、滴定セルに加える前に粉砕する必要があります。

力価を定期的に測定する（例えば、1%のAquastar®水標準物質を用いて確認）ことを推奨します。力価測定は、ホルムアミドとサリチル酸を含む実際の脱水溶剤中で行うことが重要です。

水分計パラメーター：

- 抽出時間（攪拌時間）：180秒
- 滴定設定（デフォルト）：
 $I(\text{pol}) = 20 \sim 50 \mu\text{A}$ 、 $U(\text{EP}) = 100 \sim 250 \text{ mV}$
停止基準：ドリフト < 20 $\mu\text{L}/\text{min}$

試薬のリストについては注文情報をご覧ください。

（次のページへ続く）

電量滴定法と組み合わせた カールフィッシャー水分気化法の手順

インスタントコーヒーは水分含有量が少なく一般に精度が不十分なため、水分気化装置を使用しない電量滴定は推奨しません。

水分気化法を用いると、水分をインスタントコーヒー試料から抽出／放出して電量滴定セルで定量できます。カールフィッシャー試薬 Aquastar® CombiCoulomatフリットは、1つの試薬しか必要としないので取り扱いが簡単なため、ダイヤフラム付き滴定セルの陽極、陰極セルのいずれにも適しています。約10mLの溶液を陰極セルに、150mLを陽極セルに入れることを推奨します。その後、無水滴定します。無水滴定とドリフト安定化後、試料ビンに対するブランク値を測定することによって一連の測定を開始できます。その後、0.1gの試料を秤量して試料ビンに入れ、キャップで直ちに密閉します。ビンを手動または自動で気化装置の加熱炉に移動させ、選択した温度プログラムで加熱します。それによって放出された水分がキャリアガス(乾燥空気または窒素)によって滴定セルに移動し、分析されます。

最初のサンプル測定前と終了時、および一連の測定時間が長い場合は気化装置用の水標準物質(1%のAquastar® オープン標準物質など)を用いて滴定システムの性能をチェック／検証することを推奨します。

水分計パラメーター:

水分気化装置の設定:

- 温度:105°C 抽出時間:600秒
- ダイヤフラム付きセル用电量計設定(デフォルト):
- 終点指示例:
 $I(\text{pol}) = 5 \sim 10 \mu\text{A}$, $U(\text{EP}) = 50 \sim 100 \text{ mV}$
 停止基準:ドリフト < 20 $\mu\text{g}/\text{min}$



製品情報

製品名	カタログ番号
容量滴定で使用する試薬	
Aquastar® - CombiTitrant 5, one component reagent, 1 mL = approx. 5 mg water	188005
Aquastar® - Titrant 5, two component reagents, 1 mL = approx. 5 mg water	188010
Aquastar® - CombiMethanol, one component solvent, max. 0.01% water	188009
Aquastar® - Solvent, two component solvent	188015
Formamide	109684
Salicylic acid	100635
Aquastar® Water Standards 1% in ampoules	188052
電量滴定用試薬・水分気化法用標準物質	
Aquastar® - CombiCoulomat frit, Coulometric Karl Fischer reagent for cells with diaphragm	109255
Aquastar® - Oven Standard 1%, solid standard for the Karl Fischer oven method	188054

食料品と飲料サンプルのアプリケーションについては、
SigmaAldrich.com/application-noteをご覧ください。

技術的なお問い合わせはテクニカルサービス
 (jpts@merckgroup.com)にお問い合わせください。

当社のAquastar®ポートフォリオについては、
<http://www.sigma-aldrich.com/kf-jp>をご覧ください。

HPTLCによるステビオールグルコシド類の分離

新しいステビア抽出物標準物質の利用

Debora Frommenwiler, Application Scientist (CAMAG), debora.frommenwiler@camag.com

Melanie Broszat, Scientific Business Development Manager (CAMAG), melanie.broszat@camag.com

Monika Bäumle, Product Manager TLC

Matthias Nold, Product Manager Reference Materials, Analytix@merckgroup.com



HPTLC (高性能薄層クロマトグラフィー) は、複雑な化学混合物の分子フィンガープリントを作製する高速かつ効率的なツールです。そのため、とりわけ植物と植物由来生成物の分析に最適です。筆者らは、栄養補助食品として、またはイチョウ、チョウセンニンジン、セイヨウオトギリソウなどの植物性医薬品として使用される植物のHPTLCのいくつかの例をAnalytix/Reporter (季刊誌) のシリーズ記事¹⁻⁴に示しました⁵。本稿では、当社の新しいステビア抽出物標準物質の分析を含む、ステビア葉に対するフィンガープリント法をそのシリーズの続きとして紹介します。

ステビア植物の葉からの抽出物には、甘味料として用いられてきた長い伝統があります。ラテンアメリカの先住民は、何世紀にもわたってその甘味のゆえにそれを知り、消費してきました。ステビア抽出物はスクロースの約300倍もの強い甘味を持ちながら、血糖にはほとんど影響しません。そのため、近年は人工甘味料の代替品として世界の他の地域でますます使用されてきています。

ステビアはFDAから栄養補助食品として認可されており、レバウジオシドAは「一般に安全と認められる (GRAS)」と考えられています。欧州共同体は、ステビオールグルコシド類を食品添加物として使用することを2011年12月から許可しました。

WHOは、ステビオールグルコシド類の1日の許容摂取量を体重1kg当たり4mgと決めました⁶。

当社は最近、リュルツハイム (ドイツ) のHWI pharma services社が開発し、製造する新しい抽出物標準物質を発売しました。

製品名	定量した化合物	定性的に確認した化合物	容量	カタログ番号
Stevia extract	Stevioside	Rebaudiosides A, B, C and D, Dulcoside A, Rubusoside, Steviolbioside, Stevioside	500 mg	06295001

この新製品は、食品添加物や植物性医薬品として使用する植物の代表的な構成成分を素早く同定および定量する方法に使用するように考案されております。(製品のリストについては、[SigmaAldrich.com/plantextracts](https://www.sigmaaldrich.com/plantextracts)を参照)。

ステビア抽出物標準物質は、主成分であるステビオシドの定量値とその他の様々な成分 (レバウジオシドA、B、C、およびD、ズルコシドA、ルブソシド、ステビオールビオシド、ステビオシド) の定性的構造を含む包括的な文書とともに提供されます。その文書には、ピーク同定を割り当てたクロマトグラムを含むHPLC法の他、それに応じたHPTLC法も記載されています⁵。

分析にはSupelco® HPTLCプレートと試薬を用いました。高純度なステビオールグルコシド類の分析用標準物質を以下にリストしました。当社の全植物性化学物質用標準物質リストについては、[SigmaAldrich.com/medicinalplants](https://www.sigmaaldrich.com/medicinalplants)をご覧ください。

HPTLC法

この方法の適用範囲は、WaldとMorlock (2017)⁵によるHPTLC法で得られたステビオールグルコシド類のHPTLCフィンガープリントに基づくステビア葉乾燥抽出物標準物質を、ステビア葉のフィンガープリントと比較して同定することです。また、クロマトグラムのゾーン同定には標準物質を用いました。

器具類

自動TLCサンプラー (ATS 4)、自動展開槽 (ADC 2)、クロマトグラム浸漬装置3、TLCプレートヒーター3、TLCビジュアライザー、vision CATS (このソフトウェアは、方法ごとのSOP、計器の方法、および標準イメージとの比較ファイルを含む方法ライブラリーを提供します)

(次のページへ続く)

試料

抽出:50mgの試料を50mLのメタノールに懸濁させ、10分間超音波を当てました。懸濁液を遠心分離して上澄み液を使用しました。

葉:0.5gの粉末葉を30mLの水に懸濁させ、10分間煮沸しました。溶液を濾過して50mLのメスフラスコに入れ、水を足しました。

標準溶液

メタノールが0.3mg/mLの濃度になるように標準溶液を調製しました(注:これは[5]の9.09倍の濃度です)。

USP <203>に準拠したクロマトグラフィー

Stationary phase	HPTLC Si 60 F ₂₅₄ , 20 x 10 cm (1.05642)
Sample application	Application with ATS 4, 10 tracks, band length 8 mm, track distance 11.4 mm, distance from left edge 20 mm, distance from lower edge 8 mm, application volume 2 µL for test solutions and standards
Developing solvent	Ethyl acetate, methanol and formic acid 93:40:1 (v/v/v)
Development	In the ADC 2 without chamber saturation and after conditioning at 33% relative humidity for 10 min using a saturated solution of magnesium chloride.
Developing distance	70 mm (from the lower edge)
Plate drying	5 min in the ADC 2
Documentation	With the TLC Visualizer under UV 366 nm and white light after derivatization.
Derivatization	Reagent name: 2-Naphthol
Reagent preparation (dipping):	2 g of 2-naphthol in 180 mL of ethanol and 12 mL of 50% sulfuric acid.
Reagent use:	The plate was immersed into 200 mL of 2-naphthol reagent using the Chromatogram Immersion Device (immersion time 0 s and immersion speed 3 cm/s) and then heated at 120°C for 5 minutes.

結果

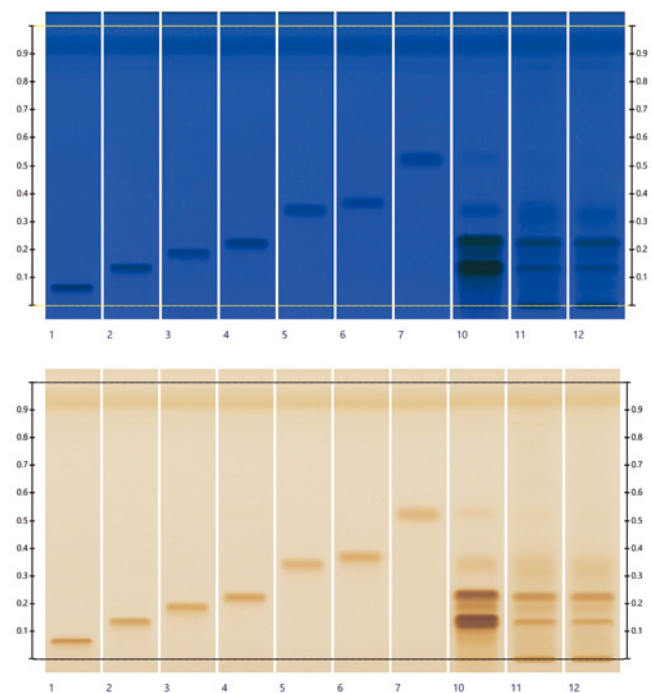
誘導体化したプレートを366nmの紫外光と白色光の下で観察しました(図1)。HWI社抽出物のフィンガープリント(トラック8)には、レバウジオシドA、C、ステビオシド、レバウジオシドBとズルコシドA(これらは共溶出します)、およびステビオールピオシドの標準溶液と色および位置が一致するゾーンが見えます。フィンガープリントはステビア葉のもの(トラック9および10)と似ています。レバウジオシドDは、葉のフィンガープリント、特に366nmの紫外光の下でしか見られません(極めて淡いゾーン)。

参考文献

1. Analytix 5 (2016): HPTLC Fingerprint Applications for Ginkgo Biloba
2. Analytix 1 (2017): Fingerprint Applications for *Hypericum perforatum*
3. Analytix Reporter 2 (2018): Fingerprinting of Medicinal Plants with TLC
4. Analytix Reporter 3 (2018): HPTLC Application for *Passiflora incarnata*
5. Wald JP, Morlock G. Quantification of steviol glycosides in food products, Stevia leaves and formulations by planar chromatography, including proof of absence for steviol and isosteviol. Journal of Chromatography A, 2017.
6. WHO Food Additives Series 54; 2006; page 117

図1 366nmの紫外光(上)および白色光(下)の下で誘導体化した後のHPTLCクロマトグラム。

トラック1:レバウジオシドD、2:レバウジオシドA、3:レバウジオシドC、4:ステビオシド、5:レバウジオシドB、6:ズルコシドA、7:ステビオールピオシド、8:ステビア葉乾燥抽出物標準物質(HWI)、9:ステビア葉1、10:ステビア葉2



使用した製品

製品名	容量・サイズ	カタログ番号
HPTLC Silica gel 60 F ₂₅₄ , 20 x 10 cm	50 ea	1.05642
Stevia Extract	500 mg	06295001
ステビア抽出物の標準物質		
Dulcoside A	10 mg	90378
Isosteviol	10 mg	92273
Rebaudioside A	10 mg	38462
Rebaudioside B	10 mg	49747
Rebaudioside C	10 mg	30987
Rebaudioside D	10 mg	19189
Rubusoside	10 mg	62933
Steviol	10 mg	19345
Steviolbioside	10 mg	59754
Stevioside	10 mg	50956

お客様のステビア標準物質の全リストについては、[SigmaAldrich.com/stevia](https://www.sigmaaldrich.com/stevia)をご覧ください。

関連製品

製品名	カタログ番号
溶媒&試薬	
Methanol gradient grade for liquid chromatography LiChrosolv®	1.06007
Ethyl acetate for liquid chromatography LiChrosolv®.	1.00868
Formic acid 98% - 100% for LC-MS LiChropur®	5.33002

当社のTLC製品全般の詳細については、[SigmaAldrich.com/tlc](https://www.sigmaaldrich.com/tlc)をご覧ください。

迅速光度測定試験を用いた飲用水、ミネラルウォーター、地下水、および湧水中鉄分の高感度定量

Katrin Schwind, Application Scientist, Analytical Point-of-Use R&D

Gunter Decker, Senior Global Product Manager, Analytical Point-of-Use Analytics | Photometry, Analytix@merckgroup.com

飲用水の水質は、EU理事会指令98/83^{1,2}やWHOガイドライン³といった様々なガイドラインで規制されています。このような上限値を定めるには、健康被害と感覚的および技術的な理由の両方を考慮します。例えば、飲用水に通常見られる程度の濃度の鉄分は健康に危害を及ぼしません^{2,3}。しかし、鉄分濃度が高くなると水酸化鉄が生成され、水道管系に堆積して水が茶色に変色します⁴。

無色透明の水を確実に供給するために、飲用水に対する国固有の上限値が定められています。EU指令での鉄分の上限値は0.2mg/L Fe²⁺、米国EPAでは0.3mg/L Feです⁵。水道管系への鉄分の堆積を防ぐには、0.02mg/Lの上限値を超えてはなりません⁶。定められた上限値を超えないように、飲用水は多くの場合に鉄分の沈殿処理ステップを通します。この方法によって鉄分が実質的に取り除かれるため、鉄分の濃度は低ppbレベルまで低下します⁶。

分析法

微量なレベルを定量するための高感度分析法には、フレイム原子吸光分析（フレイムAAS、F-AAS）、誘導結合プラズマ発光分光法（ICP-OES）などがあります。DIN EN ISO 38406-32によるF-AAS法の測定範囲は、投入量によって0.002～0.020mg/L Feになります。DIN EN ISO 11885によるICP-OES法の定量限界（LOQ）は0.002mg/L Fe^{7,8}です。筆者らの研究室では、ICH Q2規格に準拠したICP-MSによって0.0007mg/L FeのLOQを達成しています。

分析試験キットを用いた鉄分分析（迅速光度測定法）

高価な機器を使用することなく高感度の結果を素早く得るための実用的な方法は、迅速光度測定法です。試験キットの特長は使いやすさと手順の速さです。選択できる方法は、用途、測定範囲、および要求される精度によって決まります。鉄分の場合は2種類の高感度光度測定法を選択できます。

APHA 3500-Fe BとDIN 38406-1に従って1,10-フェナントリン法を用いた鉄分の定量では、多くのサンプルに十分な0.01mg/Lのレベルまで光度測定できます⁹。

さらに低いLOQが必要な場合はトリアジン法を選択します。この方法では、すべての鉄イオンが鉄(II)イオンまで還元されます。これらは、トリアジン誘導体を含有するチオグリコール酸緩衝溶液中で反応して赤紫色の錯体を生成し、その光度を測定して定量します¹⁰。100mmのセルとProve 600 UV-VIS分光計を用いると、0.0025mg/Lという低い鉄分のLOQを測定できます。鉄分除去処理を行うこと、およびほとんどの飲用水に含まれる自然由来の鉄分は少ないため、感度が高いトリアジン法を選択すべきであると考えられます。Spectroquant® Iron Test（カタログ番号114761）の測定範囲は0.0025～5.00mg/L Feです。Spectroquant® Prove 光度計には測定方法が事前にプログラムされているため、検量線を作成する必要はありません。

Spectroquant Iron Testキットでのサンプル調製と測定の実行

サンプルにまず硝酸を加えて酸性化し、鉄分を安定化しなければなりません。炭酸を含むサンプルは超音波水槽でガス抜きもしなければなりません。測定手順の詳しい説明については、「水中鉄分の高感度測定」アプリケーションを参照してください¹¹。

ICP-MS法とSpectroquant Iron Test法の比較

異なる5種類のミネラルウォーターの鉄分含有量をSpectroquant®試験キットとICP-MSで定量しました。サンプルはすべて、それぞれの方法でのLOQ（ICP-MSでは0.0007mg/L、Spectroquant®試験キットでは0.0025mg/L）未満でした。

5種類のサンプル料に3種類の異なる濃度レベルの鉄を標準添加法で添加し、光度測定法でそれぞれの回収率を測定しました。その結果を表1と図1に示します。

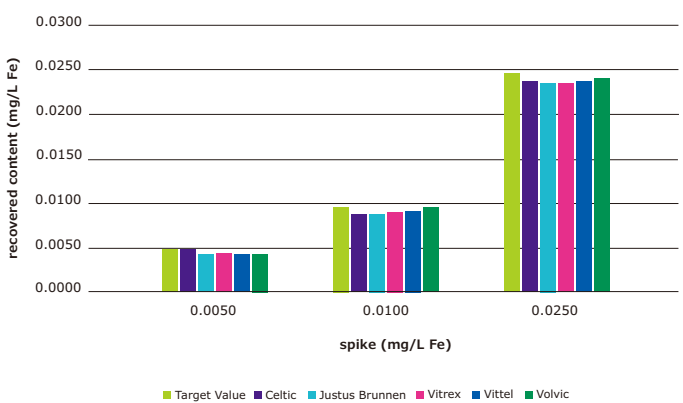
添加した鉄の濃度は正確に回収されました。添加サンプルの回収率はすべての実験で89%～99%の範囲にあり、平均回収率は95%でした。

（次のページへ続く）

表1 標準添加後に回収された鉄分含有量

Mineral water	Addition [mg/L Fe]	Recovered concentration [mg/L Fe]	Recovery rate
Celtic natural	0.0050	0.0050	99%
	0.0100	0.0089	89%
	0.0250	0.0239	96%
Justus Brunnen medium	0.0050	0.0046	91%
	0.0100	0.0091	91%
	0.0250	0.0239	96%
Vitrex natural	0.0050	0.0048	95%
	0.0100	0.0093	93%
	0.0250	0.0238	95%
Vittel natural	0.0050	0.0046	91%
	0.0100	0.0095	95%
	0.0250	0.0241	97%
Volvic natural	0.0050	0.0047	93%
	0.0100	0.0098	98%
	0.0250	0.0244	98%

図1 標準添加の結果



検量線をカスタマイズするとさらに高い精度を得ることができます。**表2**に、DIN 38402 A51とISO 8466-1に従って定量するカタログ番号**114761**を使用した方法と、光度測定試験キットを用いて0.0005～0.0100mg/l Feの測定範囲用に手動で作成した校正曲線を比較した性能特性を示します。検量線を**図2**に示します。

カスタム検量線の変動係数は4.35%と、プログラム法の3.3倍でした。これは、低濃度ではカスタム校正法の偏差の相対的な影響が大きくなるためです。絶対値を見れば、方法標準偏差とP=95%方法信頼区間の値がプログラム法の1/13～1/14であることで示されるように、カスタム校正手順の方法誤差が圧倒的に小さくなります。

標準添加の場合、そのようなカスタム校正を用いると回収率がさらに向上して平均値は101%を達成しました。個々の値は95%～106%の間にあります (**表3**参照)。

図2 0.0005～0.0100 mg/L Feの測定範囲に対する校正曲線

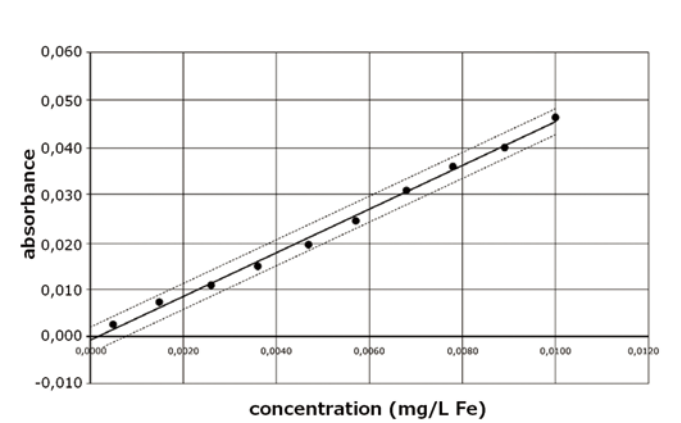


表2 性能特性の比較

	Pre-programmed method 0.0025 – 0.5000 mg/L Fe	Custom calibration 0.0005 – 0.0100 mg/L Fe
Method standard deviation [mg/L]	± 0.00328	± 0.00023
Method coefficient variation [%]	± 1.31	± 4.35
Confidence interval (P=95 %) [mg/L]	± 0.0079	± 0.0006

表3 カスタム校正で標準添加した後に回収された鉄分含有量

Mineral water	Addition [mg/L Fe]	Recovered concentration [mg/L Fe]	Recovery rate
Celtic natural	0.0050	0.0053	106%
	0.0100	0.0095	95%
	0.0250	0.0255	102%
Justus Brunnen medium	0.0050	0.0049	97%
	0.0100	0.0097	97%
	0.0250	0.0255	102%
Vitrex natural	0.0050	0.0051	102%
	0.0100	0.0099	99%
	0.0250	0.0254	102%
Vittel natural	0.0050	0.0049	97%
	0.0100	0.0102	102%
	0.0250	0.0257	103%
Volvic natural	0.0050	0.0050	99%
	0.0100	0.0105	105%
	0.0250	0.0261	104%

ミネラルウォーターは鉄分含有量が少ないため、水処理を行わないために鉄分濃度が元々高い地下水と湧水のサンプルを用いた実験も行いました。測定はプログラム法で行いました。測定結果は、ここでもICP-MS法を用いた標準分析で検証しました。**表4**に、2つの方法で得られた結果の比較を示します。

表4 地下水と湧水の鉄分含有量
— Icp-MSとSpectroquant Iron Test 114761の比較

Groundwater and spring water	Concentration [mg/L Fe]	
	ICP-MS	Spectroquant® Iron Test 114761
Spring water Bad König	0.0047	0.0041
Spring water Höchst Himmelsleiter	0.0043	0.0051
Spring water Breitenbrunn	0.0022	< 0.0025
Spring water Vielbrunn	0.0017	< 0.0025
Spring water Rai-Breitenbach	0.0059	0.0051
Groundwater Bensheim	2.70	2.71

Spectroquant Iron Testで得られた結果は、ICP-MS法を用いて得られたものと一致しています。ベンスハイムの地下水サンプルは2.7 mg/L Feと鉄分含有量が極めて多く、規定された手順から逸脱するため、10 mmのセルを使用しました。このときの回収率は100%でした。これらの結果から、鉄分の濃度が極めて高くても鉄試験によって正確に濃度を測定できることが示されます。

鉄分濃度が低い湧水サンプルの場合、測定結果のずれは最大0.0008 mg/Lに過ぎませんでした。光度測定法のLOQより低いこうした鉄分濃度もICP-MS測定によって確認されました。

まとめ

飲用水、ミネラルウォーター、地下水、および湧水中鉄分を定量する場合、Spectroquant Iron TestはICPやAASに対する良い代替法になります。この方法は容易に実行でき、ICP-MS法で得られるのと同程度の結果が得られます。経済的な理由でICP-OESシステムやICP-MSシステムを購入することが得策でないすべての研究室にとって、Spectroquant Iron Test (カタログ番号114761) は、飲用水、ミネラルウォーター、地下水、および湧水中鉄分を高速、高感度、かつ正確に定量する手段を提供します。

使用した試薬、サンプル、および測定機器:

どの測定にもProve 600分光光度計を用いました。基準にしたシステムは、Thermo Fisher Scientific HR-ICP質量分析計 (要素2装置による方法) です。

使用した製品

製品名	カタログ番号
Spectroquant® Prove 600 UV/VIS spectrophotometer 1,8 nm spectral bandwidth	173018
Spectroquant® Iron Test 0.0025-5.00 mg/L Fe	114761
Iron Standard Solution CertiPUR® 1000 mg/L in 0.5 mol/L HNO ₃	119781
Nitric acid 65% for analysis EMSURE® ISO	100456
Water Ultrapur	101262

分光光度分析に適したSpectroquant®製品ラインの詳細については、<https://bit.ly/spectroquant-prove>をご覧ください。

参考文献

1. Ordinance of the DVGW (Deutscher Verein des Gas- und Wasserfach, German Technical and Scientific Association for Gas and Water), Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch, TrinkwV 2001, edition of 10 March 2016.
2. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption, 1998.
3. World Health Organization, Guidelines for Drinking Water Quality, 2011.
4. H. D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, Lehrbuch der Lebensmittelchemie, Springer Berlin Heidelberg, 2001.
5. United States Environmental Protection Agency, 2012 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories, EPA 822-S-12-001, 2012.
6. DVGW (Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches, German Technical and Scientific Association for Gas and Water), Enteisung und Entmanganung; Teil 1: Grundsätze und Verfahren, Arbeitsblatt W 223-1-2005-02, 2005.
7. DIN 38406-32:2000-05, Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser, Abwasser- und Schlammuntersuchung – Kationen (Gruppe (E), Bestimmung von Eisen mittels Atomabsorptionsspektrometrie, 2000.
8. DIN EN ISO 11885:2009-09, Wasserbeschaffenheit – Bestimmung von ausgewählten Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (ICP-OES), 2009.
9. Package leaflet Spectroquant® Iron Test, Cat. No. 100796, June 2016.
10. Package leaflet Spectroquant® Iron Test, Cat. No. **114761**, June 2016.
11. <https://www.SigmaAldrich.com/catalog/product/mm/114761>

メルクの技能試験

性能評価に必須の新ツール

Nick Hauser, Global Product Manager Reference Materials nick.hauser@milliporesigma.com

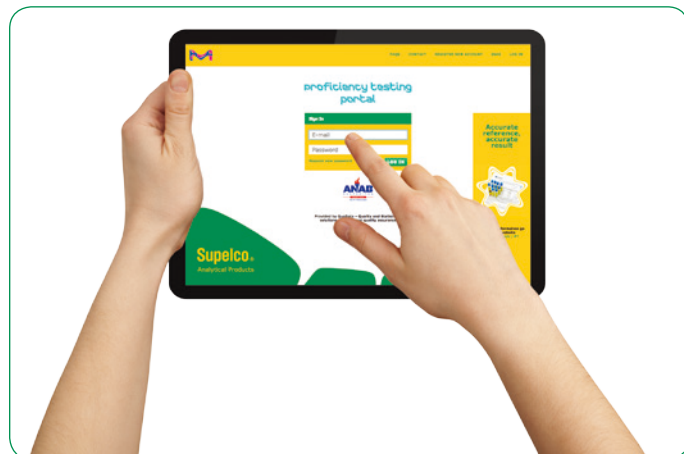
Supelcoは、新しい技能試験用データ入力ポータルを導入しました。2018年7月中旬に発表した新しいポータルには[Merck-pt.com](https://merck-pt.com)からアクセスできます。新しいポータルは効率化され、高速で使いやすいデータハンドリングを提供します。当社は、効率的、シンプル、かつエンドユーザーの進化するニーズを満たすユーザーインターフェースを更新し、提供することを約束しています。その結果生まれたのが、習熟しやすく、記憶しやすく、使いやすい新しいデータ入力ポータルです。

新しいPTポータルの特長のいくつかを以下に示します。

- 初めてのユーザーでも操作しやすいワンクリックデザイン
- 進行中の試験がすべてホーム画面に目立つように表示される
- 研究室に新しく加わった要員／分析者を容易に追加
- 認定者の追加とデータ入力のすべてが単一ページで可能
- 方法／分析者／分析日付を試料中の全分析対象物に簡単に写し取る
- データは報告するたびに能動的に保存される
- 入力したものを正確に示し、評価用に提出される確認画面
- 社内の方法を追加するオプションとともにデフォルトとして保存される方法
- 顧客が登録された試験の開始日と終了日を示すカレンダー
- 新しいデザインの「よくある質問」ページ
- 試験が終了する7日前に電子メールを顧客に自動発信して注意を喚起する
- サードパーティー（会社のQAマネージャー）に結果を送付するオプション
- 認定者はいつでもログインして結果をダウンロードできる
- データ入力ページ上の項目を展開／折り畳んでローディング時間を短縮

MyTrendsとMyStatsを用いたデータの追跡および分析

以前のPTポータルに入力したすべての試験データが新システムに移行されました。更新後のポータルの新しいユーザーも、以前使用していたPTプロバイダーがどこであっても、過去のデータをインポートしてデータの傾向を掴むことができます。報告書にグラフが加えられたことも、すべてのデータ処理ニーズに対する新しい改良になりました。



新ポータルでのトレーニング

新ポータルをデモし、あらゆるご質問に答えるためのオンラインセミナーを提供しています。オンラインセミナーに出席する機会がなかったお客様のために、PTポータルログインページ ([Merck-pt.com](https://merck-pt.com)) のFAQセクションにオンラインセミナーのコピーを掲載しました。ご都合のよいときにご覧ください。

技能試験に対する当社のソリューションの詳細については、[Sigmaaldrich.com/PT](https://sigmaaldrich.com/PT)をご覧ください。

あなたの食品はヘルシー？

携帯型反射率計法によるジャガイモ中全糖(ブドウ糖と果糖)の測定

Saskia Schröter, Product Manager Mobile and Analytical Workflows, saskia.schroeter@merckgroup.com



熱いフレンチフライや湯気を立てているベークドポテトを嫌いな人がいるでしょうか？揚げたり焼いたりした食品の美味しそうな味と香りの多くはメイラード反応によるものです。この反応が、調理した食品にこの風味を付ける茶色の化合物を作り出します。残念ながらアスパラギンと還元糖(ブドウ糖、果糖など)が反応すると、毒性と発がん性も持つと考えられるアクリルアミドも形成されることがあります。アクリルアミドは体内でグリシドアミドに変換され、DNAと結合して変異を引き起こす可能性があります。高レベルのアクリルアミドは、ジャガイモやパンなどのでんぷん質の食品を120℃超で調理したときに見つかることがあります。このような潜在的に危険なアクリルアミドの形成は、還元糖のレベルを安全限度内に抑え、加工食品の品質と栄養価を保証することによって最小化できます。

製造ラインで正確な結果を – 現場で直ちに

反射率計法(緩解測光法)は、水、食品、飲料、および環境サンプル中の様々な有機および無機パラメーターを迅速に、かつ高感度で定量する方法です。専用試験紙を反射率計と組み合わせて使用し、ラボ内、製造ライン上、または現場で測定できます。

簡単なReflectoquant® Total Sugar TestとRQflex® 20反射率計により、ジャガイモ中の全遊離糖をほんの数分で定量できます。

グルコース-6-りん酸デヒドロゲナーゼおよびジアホラーゼとの酵素反応後の反射率測定

サンプル調製

ジャガイモをUltraturraxなどのブレンダーで均質化します。すりつぶしたサンプルを10~20g量って50mLのメスフラスコに入れ、サンプルの正確な重量を書き留めます。約40mLの蒸留水を加えて10分間かき混ぜます。その後、蒸留水を標線まで加えます。折り畳んだろ紙で濾過します。

測定方法

10mLの蒸留水、5滴のTS-1試薬、および濾過した1mLのサンプルを試験容器に入れて回転させます。反射率計のSTARTキーを押し、同時に試験紙を測定サンプル(23±3℃)に約2秒間漬け、両方の反応ゾーンが漬っていることを確認します。試験紙に残った余分な液体は、試験紙の角を給水ペーパータオルにあてて除去します。試験紙をストリップアダプターに直ちに挿入します。

60秒経ったら試験紙を反射率計で測定します。測定値[mg/L]は自動的に保存されます。

全糖量[g/kg]は、測定値[mg/L] x 50mL / サンプル重量[g] x 100として計算できます。



(次のページへ続く)

結果と標準的な酵素法の比較

Sample	Total Sugar [g/kg] Reflectoquant® method	Total Sugar [g/kg] Enzymatic method
1	15.4	17.3
2	5.7	6.4
3	0.4	0.4
4	<0.2	0.1

0.2～1.0g/kgの還元糖を含むジャガイモから調理に最適な品質のロースト品を用意でき、アクリルアミドの生成を最小化する条件で調理したときのアクリルアミド含量は500µg/kg未満に保たれます¹。

使用した製品

製品名	カタログ番号
Reflectoquant® Total Sugar Test, 50 Tests	116136
Reflectometer RQflex® 20	117246

参考文献

1. How much reducing sugar may potatoes contain to avoid excessive acrylamide formation during roasting and baking? Biedermann-Brem, S., Noti, A., Grob, K. et al. Eur Food Res Technol (2003) 217: 369. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0779-z>

RQflex® 20 反射率計

直感的なメニュー間移動 – 7カ国語に対応

お客様のニーズに合わせて設定を調整する機能と併せて、すべての方法、結果、および品質保証オプションにアクセスするためのシンプルかつ使いやすいメニューシステム。



ポータブル分析

現場で重要な分析を行って定量的な結果をすぐに得るための、移動実験室のような軽量かつコンパクトなシステム。お客様のプロセスのどの段階でも、サンプルを容易にモニターして数分で結果を得ます。



バッチ固有の校正でバーコード化した専用試験紙

あらゆる検査条件で試験紙の各バッチを校正し、バーコード化して正確かつ再現性のある結果が得られます。±10%以内という平均精度で一貫した結果をすばやく得られます。

装置の分析品質保証 (AQA)

RQcheckとトータルシステムモニタリングプロセスによって、分析品質保証 (AQA) のための正確かつ高精度の測定結果が得られ、校正も容易で常に信頼できる測定値が得られます。

分析を効率化するカウントダウンタイマー

試験紙の反応時間終了前にアラートを表示して、再現性最大化するためのカウントダウンタイマー機能があります。

幅広い検査キットとアプリケーションノート

Reflectoquant製品群には、アンモニウムから硝酸塩、尿素まで、野菜や水中の硝酸塩量の検査、ハチミツの鮮度測定、土中アンモニウム量の定量といった分析用の広範な検査キットがあります。

詳細とアプリケーションの概要については、

<https://www.sigmaaldrich.com/japan/analytical-chromatography/reflectometer-test-strips-and-visual-tests.html>

をご覧ください。



あなたは糖でできている？

食品と環境分析における糖分検査へのイオンクロマトグラフィー応用例

Christian Emmenegger, Product Manager, Metrohm, christian.emmenegger@metrohm.com

Matthias Nold, Product Manager Reference Materials

Daniel Weibel, Product Manager Trace Organic Analysis & Sensorics, Analytix@merckgroup.com



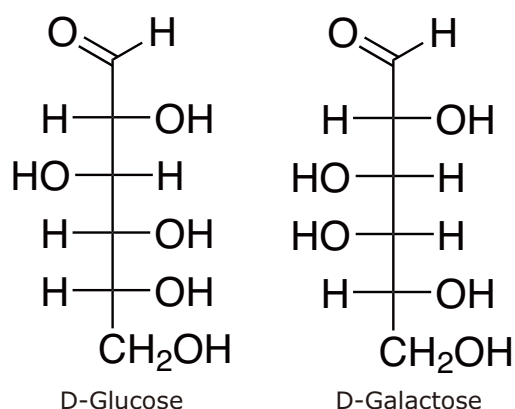
炭水化物は地球上のバイオマスの最大部分を占めています。炭水化物は光合成によって生成され、すべての植物と植物ベースの物質に存在します。試料中の炭水化物の量と組成から、状況に応じた幅広い情報が明らかになります。その結果、炭水化物は様々な業界で分析対象になります。

本稿では、イオンクロマトグラフィーがいかに糖分分析の分析技法として適しているかを示します。本アプリケーションに使用した溶離液と標準溶液は、すべて[SigmaAldrich.com/jc](https://www.sigmaaldrich.com/jp)からお求めいただけます。

身の周りの炭水化物

食品業界では、炭水化物と糖分の含有量が食品と飲料の栄養価を決める主要因であることが知られています。環境分析での例を1つだけ挙げると、セルロースの熱分解で生成され、バイオマス燃焼のトレーサーの役割を果たす無水糖レボグルコサンはエアロゾル中で定量されます。これらは、炭化水素分析の多くの応用例の2つに過ぎません。炭水化物は、それぞれが1つのカルボニル基（アルデヒド基またはケトン基）といくつかの水酸基を持つ1つ以上の単糖類のユニットから構成されます¹。単糖類、二糖類、およびオリゴ糖は水に溶けるため、水相で実行されるイオンクロマトグラフィーがそれらの分析に特に適しています。イオンクロマトグラフィーでは有機相に抽出する必要がないため、直接定量が可能です。一方、糖類は似た構造が多い比較的大きな分子であるため（グルコース、ガラクトースなど。図1参照）、大容量のカラムを必要とします。

図1 グルコースとガラクトースの構造式。分子間の違いは、C4原子にあるOH基の位置だけです。



食品中の糖分

2016年12月以降、欧州連合 (EU) は未加工製品とばら売り製品を除くすべての食品に栄養価を表示することを義務付けました（規制番号**1924/2006**）。すでに確立されている慣行（カロリー価と、糖分、炭水化物を含む特定の栄養素の表示）が義務化されたのです。

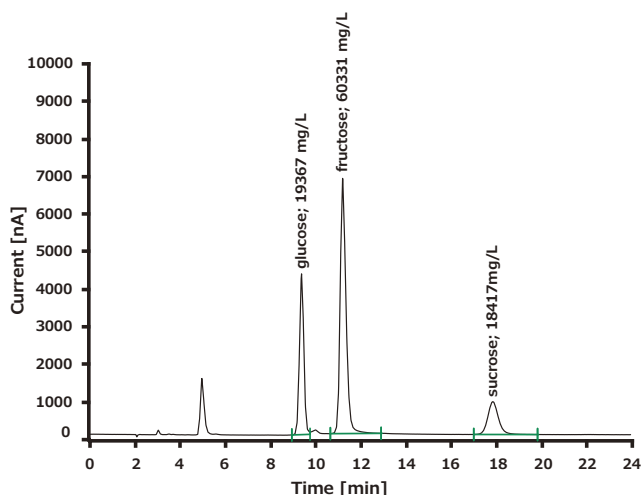
グルコースのポリマーであるデンプンの他、食品中にある利用可能な炭水化物の多くは糖分の形で存在します。EUの定義によれば、これは多価アルコールを除くすべての単糖類と二糖類を含みます。食品中の糖分の大部分は、単糖類グルコース、フルクトース、ガラクトース、ならびに二糖類スクロース、ラクトース、およびマルトースからなります。

（次のページへ続く）

アップルジュースの分析

図2のクロマトグラムは、超純水で1:1000に希釈したアップルジュースを注入して得たものです。希釈以外に試料を前処理する必要はありません。アルカリ性溶離液（100mMの水酸化ナトリウム／10mMの酢酸ナトリウム、カタログ番号**78348**）により、糖分は解離形（アニオンとして）で存在することが保証されるため、イオン交換体を用いたカラムで分離できます。

図2 アップルジュース中のグルコース、フルクトース、およびスクロースの定量。単純な希釈以外、試料を前処理する必要はありません²。

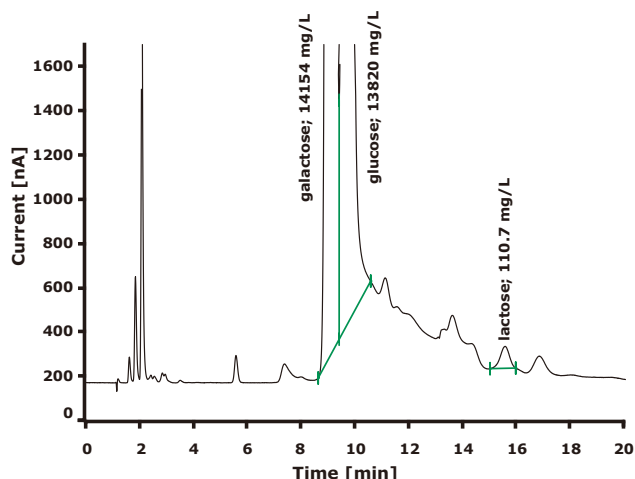


炭水化物は電気化学的に活性なため、アンペロメトリーで検出できます。アンペロメトリー検出中に作用電極に電位を印加すると、被分析物質が作用電極に酸化されます。その結果、濃度を表す電流が発生します。しかし、連続電位を長く印加し続けると、炭水化物によって作用電極上に堆積物が形成されます。したがって、アンペロメトリー検出器は、PAD（パルスアンペロメトリー検出）モードで作動させます。このモードでは、3ステージの電位サイクルにより、吸着された分子が電流測定後（定量ステージ後）に電極から取り除かれ、最終的に電極の状態が調整されることが保証されます。

「ラクトースフリー」製品中の残留ラクトース

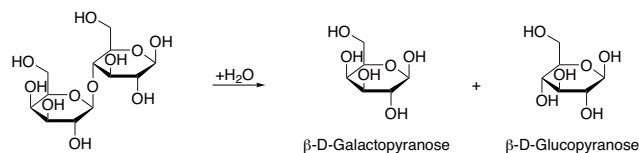
ラクトースフリーを謳う製品の品質管理で重要な作業は残留ラクトースの定量です。図3のイオンクロマトグラムに、100mg/Lのラクトースを添加した「ラクトースフリー」ミルクのラクトース定量値を示します。ここでも、強アルカリ条件（溶離液：5mMの水酸化ナトリウム／2mMの酢酸ナトリウム）で分離し、パルスアンペロメトリーで被分析物質を検出します。

図3 100 mg/Lのラクトースを添加した、ラクトースフリーを謳うミルクのラクトース痕跡の定量³



クロマトグラムでガラクトースとグルコースの濃度が高く示されているのは、ラクトースが酵素によってまさにこれらの単糖類成分に分解された結果です（図4）。ミルクはタンパク質リッチなマトリックスであるため、分析前にメトロームインライン試料前処理で透析しなければなりません。これは完全に自動化されたプロセスであるため、追加作業は必要ありません。

図4 ラクトースは単糖類ガラクトースとグルコースからなります。この図に示すラクトースの加水分解は、ラクターゼという酵素で触媒されます。



環境分析でのトレーサーとしての炭水化物

健康保護対策として用いられる細塵の上限値は、多くの場所で定常的に守られていません。その原因を探ると、交通や産業が疑われることが多いのですが、暖房用に家庭で木材を燃やすことも高い細塵値に関連付けられます⁴。多くの場合、木材燃焼を検出するためのトレーサーとしてレボグルコサン（図5）が定量されます。

図5 レボグルコサン（1,6-アンヒドロ-β-D-グルコピラノース）はセルロースの熱分解で生成されるため、一般にバイオマスの燃焼指標物質として用いられます。

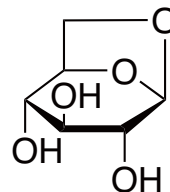
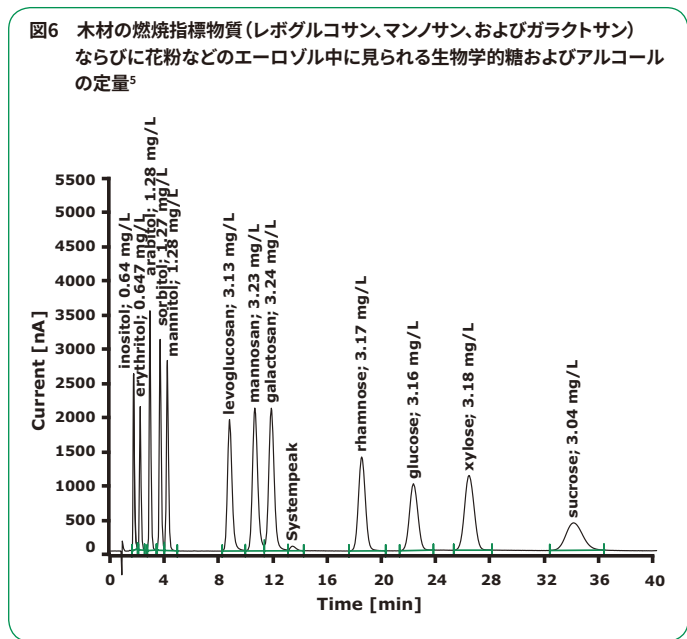


図6に、すべて木材の燃焼生成物であるレボグルコサン、マンノサン、およびガラクトサンを、エアロゾル粒子に一般的に見られる数種の生物学的糖、アルコールなどと同様に分析した標準溶液の定量値を示します。大容量カラムによってすべての物質が十分に分離された後、単一ピーク毎に定量できます。



新しい「炭水化物カラム」

Metrosep Carb 2クロマトグラフィーカラムは、イオン交換容量が大きい（そのキャリア材料に含まれるイオン交換基の数が多い）点で優れています。そのため、様々な糖分をきれいに分離できます。水分析、環境分析、医薬品および食品業界、法医学、化粧品業界、バイオ燃料の品質管理といった幅広い業界に用途が見つかります。Metrosep Carb 2は、炭水化物分析の他、小容量カラムでは失敗する、塩分含有量が多い試料（海水など）の定量にも適しています。

性能を最大限まで発揮するために、当社はMetrosep Carb 2カラム用のアルカリ性IC溶離液（カタログ番号**78348**）を開発しました。また、代表的な範囲のIC用炭水化物認証標準物質（CRM）溶液も提供しています。

参考文献

1. Ebermann, R., Elmadfa, I. (2008): Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. Vienna: Springer Verlag.
2. Metrohm Homepage Application Finder: «IC-amperometric sugar analysis in apple juice pursuant to EU regulation 1169/2011». Retrieved on January 17, 2019 from: <https://www.metrohm.com/en/applications/AN-P-070>
3. Metrohm Homepage Application Finder: «Lactose residues in "lactose-free" milk». Retrieved on January 17, 2019 from: <https://www.metrohm.com/en/applications/AN-P-055>
4. German Federal Institute for Risk Assessment (2015): «Analyse des quantitativen Einflusses der Holzverbrennung auf die Feinstaubkonzentration in Berlin und Brandenburg anhand des Tracers Levoglucosan (Levoglucosan)». Retrieved on May 18, 2015 from: http://www.bfr.bund.de/de/analyse_des_quantitativen_einflusses_der_holzverbrennung_auf_die_feinstaubkonzentration_in_berlin_und_brandenburg_anhand_des_tracers_levoglucosan_193056.html.
5. Metrohm Homepage Application Finder: «Anhydrosugars in addition to sugar alcohols and sugars from air filter sampling». Retrieved on January 17, 2019 from: <https://www.metrohm.com/en/applications/AN-P-054>

使用した製品

製品名	容量	カタログ番号
Sodium acetate/Sodium hydroxide eluent for Metrosep Carb 2	1 L, 2.5 L	78348
Glucose Standard for IC	50 mL	69222
Fructose Standard for IC	50 mL	72669
Lactose Standard for IC	50 mL	72622
Sucrose Standard for IC	50 mL	69631
Galactose Standard for IC	50 mL	72637
Glycerol Standard for IC	50 mL	72619
Levoglucosan (1,6-Anhydro-β-D-glucose)	25 mg	06724

当社が取り扱いイオンクロマトグラフィー用製品全般については、[SigmaAldrich.com/jc](https://www.sigmaaldrich.com/jc)をご覧ください。

ワサビを辛くするものは？

PhytoLab社製グルコシノレート用標準物質がSigmaAldrich.comで入手可能に

Matthias Nold, Product Manager Reference Materials, Analytix@merckgroup.com



PhytoLab社は、世界をリードする植物由来化学物質メーカーの1社です。シグマ アルドリッチは、あらゆる天然化合物類の幅広い特徴付けられ、文書化された1300を超える薬草標準物質からなるPhytoLab社の包括的なポートフォリオを提供できるのを誇りに思っています。Analytix Reporter issue5 (英語版) では、PhytoLab社のポートフォリオがカバーする幅広い製品群の例として、ピロリジジナルカロイド化合物類を紹介しました。本号では、辛子やワサビを食べたときに感じる、焼けるような感覚をもたらす天然化合物類であるグルコシノレートに注目します。

グルコシノレートは、主にアブラナ科 (西洋ワサビ (*Armoracia rusticana*)、黒辛子 (*Brassica nigra*)、ワサビ (*Eutrema japonicum*)、ブロッコリ (*Brassica oleracea* var. *italica*)、マカ (*Lepidium meyenii*) など)、フウチョウソウ科 (西洋フウチョウボク (*Capparis spinosa*) など)、パパイヤ科 (パパイヤ (*Carica papaya*) など)、トウダイグサ科、およびノウゼンハレン科 (キンレンカ (*Tropaeolum majus*) など) の様々な植物に見られる植物二次代謝産物です。グルコシノレートとその加水分解生成物は、これらの植物の刺激的な苦味の原因であるほか、草食動物に食べられないように植物を保護し、抗菌性、抗ウイルス性、抗カビ性、および抗ガン性を持つことが示されています。キンレンカ草と西洋ワサビ根を含む植物性医薬品は抗菌性を持つため、副鼻腔炎、気管支炎、および尿路感染症の治療に用いられます。

グルコシノレートはすべて中心に炭素原子を共通して持ち、炭素原子は硫黄原子を介してグルコースと結合し、窒素原子を介して硫酸基と結合しています。さらに、物質固有の側鎖 (その構造は、生合成に関与するアミノ酸によって決まります) が中心の炭素原子と結合しています。硫酸基は負に帯電しているため、グルコシノレートはほとんどの場合にそのカリウム塩として単離されます。

ミロシナーゼ酵素と水に接触すると (ミロシナーゼは別々の細胞コンパートメントに存在しますが、例えば、切ったり噛んだりする間に放出されることがあります)、グルコース部分が切断されます。残った分子

は、その後様々な自発反応を経て、通常は対応するイソチオシアナートになります。反応条件によっては、チオシアナート、ニトリル、またはオキシゾリジン-2-チオンが形成されることもあります。

グルコシノレートを高い信頼性で定量分析するには、よく特徴付けられた標準物質が欠かせません。現在、Supelcoは17種のグルコシノレートを提供しており、そのすべてに分析証明書が付いています。分子が負に帯電しているため、対イオンを考慮しなければなりません。一次標準物質として特徴付けられたグルコシノレートはすべてカリウムを定量し、絶対含有量の計算ではカリウムを不純物と見なしました。そのため、絶対含有量は純粋なグルコシノレートのみを示します。

Phytolab社のグルコシノレート標準物質

製品名	容量	カタログ番号
Epiprogoitrin	10mg	PHL89657
Glucobarbarin	10mg	PHL89684
Glucoberteroin	5mg	PHL83241
Glucobrassicinapin	10mg	PHL83242
Glucobrassicin	10mg	PHL80593
Glucosinapin	10mg	PHL89685
Glucorucic acid	10mg	PHL89686
Glucorucic acid	10mg	PHL89687
Glucorucic acid	10mg	PHL89688
Glucorucic acid	10mg	PHL89689
Glucoraphanin	10mg	PHL89215
Glucoraphenin	10mg	PHL89690
Glucosinapin	10mg	PHL89691
Glucotropaeolin	10mg	PHL89216
Progoitrin	10mg	PHL89765
Sinigrin	10mg	PHL89793
Sinigrin	25mg	PHL89279

グルコシノレートの製品リストについては、当社のウェブサイト

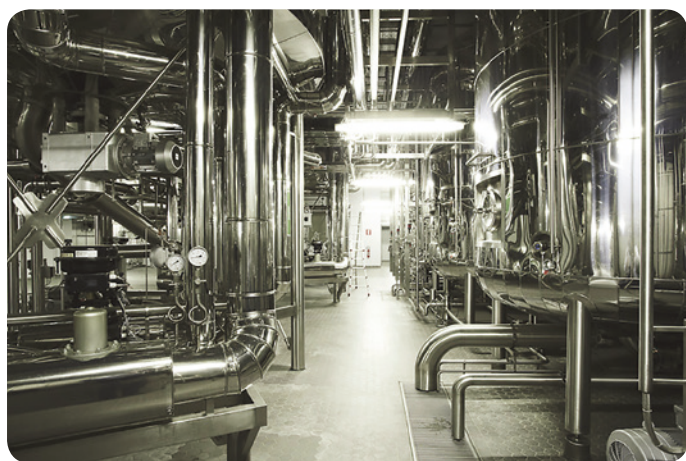
[SigmaAldrich.com/glucosinolates](https://www.sigmaaldrich.com/glucosinolates)をご覧ください。

すべての植物由来標準物質については、

<http://www.sigma-aldrich.com/phytochem-jp> をご覧ください。

迅速測光試験によるプロセス水 およびボイラー水中ケイ酸塩の超高感度測定

Katrin Schwind, Application Scientist, Analytical Point-of-Use R&D, katrin.schwind@merckgroup.com
Gunter Decker, Senior Manager, Analytical Sciences Liaison, Spectroscopy, gunter.decker@merckgroup.com



工業プラントと工業設備の効率が持続可能な操業の基本的必須条件の1つになり、経済効率がますます重要な側面になってきています。効率のロスにつながる可能性がある、回避可能な問題の1つには、パイプ、ボイラー、およびタービンの内部に蓄積される好ましくない堆積物（湯垢）があります。

こういった設備に発生する湯垢の主な原因はケイ酸塩です。特に、高圧タービン内部のような高圧下ではケイ酸塩が内面に堆積します。この問題は、主に水蒸気中に溶解したケイ酸塩によって発生します¹。

水蒸気が膨張するとケイ酸塩の溶解容量が減少し、周囲の表面（タービンの羽根など）に固体の二酸化ケイ素が形成されてプラントの効率が落ちます²。

機械の動作を中断せざるを得ない、時間がかかるクリーニング作業の必要性を最小限に抑えるのに役立つ方策は、ボイラーとボイラー供給水のケイ酸塩濃度を定期的に検査することです。

指針となる値は、ボイラーの様々な作動条件（水蒸気容量、伝熱面負荷、作動圧力など）によって決まります。高圧タービンでは、水蒸気中のケイ酸塩濃度が非常に低くても堆積につながる可能性があります。このような堆積をなくすため、ほとんどの場合に水蒸気中のケイ酸塩濃度を $20\mu\text{g/L SiO}_2$ 以下にすることを推奨されます^{3,4}。作動条件によっては、ケイ酸塩濃度の上限を $10\mu\text{g/L SiO}_2$ 以下にすることもあります²。

分析方法

低濃度のケイ酸塩を定量するには、極めて高感度の検出法が要求されます。多くの場合に用いられる方法は、ケイ酸塩濃度を低ppb領域まで検出できるグラファイト炉原子吸光分析法（GF-AAS）です。元素分析法の他、標準的な測光法も信頼できる方法であることが分かっています。この方法は、ケイ酸イオンが酸性溶液中でモリブデン酸イオンと反応して黄色のケイモリブデン酸を形成することに基づくものです。適切な還元剤を加えると濃紺色のケイモリブデンブルーが生じるため、それを光度計で定量します⁵。

ケイ酸塩試験キット

モリブデンブルー法はSpectroquant®試験キットシリーズの測光ケイ酸塩試験（カタログ番号101813）に用いた測定原理でもあります。

このシステムの利点は、高額な機器を購入する必要なく迅速かつ簡単に使用できることです。必要な試薬はすべて、ready to useで試験キットに含まれています。標準的な測光法と比べると、対応するSpectroquant®光度計を使用する方法では方法が装置にあらかじめプログラムされているため、時間がかかる検量線作成を省くことができます。100mmセルを用いたProve 600分光光度計は $0.25\mu\text{g/L SiO}_2$ までのケイ酸塩濃度を測定できるため、極めて微量の溶解ケイ酸塩を確実に検出できることになります。試験キットの測定範囲は $0.25 \sim 500.0\mu\text{g/L SiO}_2$ です。

図1 Spectroquant® Prove 600光度計



（次のページへ続く）

Spectroquant®ケイ酸塩試験での測定性能

プロセス水サンプルのケイ酸塩含量は、試験キットの測定範囲の下限部分に含まれます。測定範囲の下限域での精度は、Si-1試薬とSi-2試薬を液滴ではなくピペットで加えると向上できることが実験中に分かりました。

それに応じて試験手順を修正しただけでなく、製品付属の指示シートに記述された手順も滴下からピペット使用に変更し、可能な限り最高精度が得られるようにしました。また、手順全体でガラス器具を用いないように注意を払いました。サンプル溶液に濁りが生じた場合は事前にろ過しなければなりません。

ケイ酸塩試験では、最初に20mLのサンプル溶液をピペットでプラスチック製試験容器に取り、次いで200 µLのSi-1試薬を加えます。溶液を混合して5分間放置します。放置後、200 µLのSi-2試薬を加えて溶液を混合し、次いで1.00mLのSi-3試薬を加えます。溶液を再度混合し、5分間反応させたあと光度計で測定し、同様の方法によりUltrapure水で調製した試薬ブランクと比較します。

詳しい手順の記述については、Spectroquant®ケイ酸塩試験101813の製品ページにあるアプリケーション「Ultrasensitive determination of silicate in process and boiler water (プロセス水およびボイラー水中ケイ酸塩の超高感度測定)」をご覧ください。

Spectroquant®ケイ酸塩試験での標準溶液添加

Spectroquant®ケイ酸塩試験がプロセス水中のケイ酸塩含量の定量に適していることを示すための実験では、5つのサンプルに標準溶液添加法を適用しました。異なる3種類の濃度のケイ酸塩を各サンプルに添加しました。回収されたケイ酸塩濃度を定量するために、これもケイ酸塩試験で得たサンプルのケイ酸塩濃度を添加サンプルの測定結果から減じました。評価するために、目標値(添加濃度)と回収された濃度の偏差を算出しました。表1にその結果を示します。

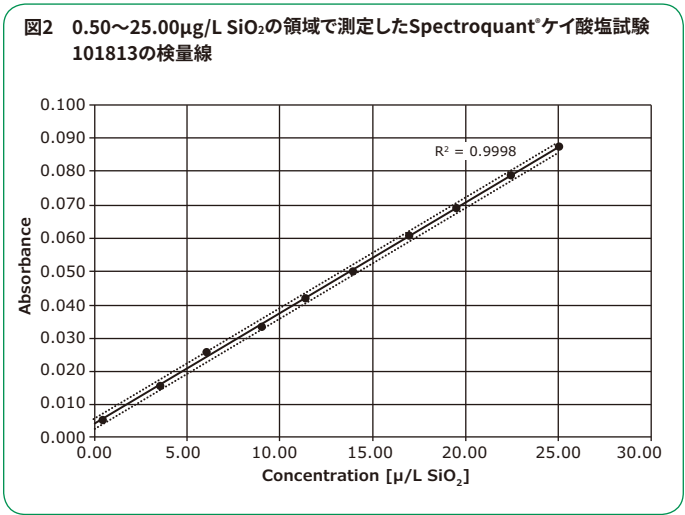
表1 回収されたケイ酸塩含量

Sample	Addition [µg/L SiO ₂]	Recovered concentration [µg/L SiO ₂]	Deviation [µg/L SiO ₂]
Ultrapure water	1.00	0.86	0.14
	5.00	6.25	1.25
	10.00	10.60	0.60
Steam water from power plant	1.00	1.83	0.83
	5.00	6.14	1.14
	10.00	11.01	1.01
Boiler water from power plant	1.00	1.24	0.24
	5.00	6.09	1.09
	10.00	10.20	0.20
DI water	1.00	1.97	0.97
	5.00	5.74	0.74
	10.00	11.31	1.31
Double-distilled water	1.00	1.75	0.75
	5.00	7.40	2.40
	10.00	11.53	1.53

回収されたケイ酸塩添加濃度はすべて、3.33µg/L SiO₂の95%信頼値以内にあり、それぞれの添加濃度からの偏差値は0.14 ~ 2.40µg/L SiO₂の間にあり、平均値は0.93µg/L SiO₂です。

プログラム法での精度は多くのユーザーにとって十分です。一方、プログラム法による誤り率がそれでも大きすぎるユーザーは、独自のカスタム検量線をプロットし、バッチ固有の変動とユーザー独自の系統誤差をなくすことによって方法の精度を向上させることができます。

図2に、0.50~25.00µg/L SiO₂の測定領域でSpectroquant®ケイ酸塩試験をプロットした検量線を示します。



ケイ酸塩試験の場合は、カスタム検量線によりISO 8466-1、それぞれDIN 38402 A51に準拠して得られる性能特性を向上させることができました。表2に、プログラム法とカスタム校正法での性能特性の比較を示します。

表2 性能特性の比較

	Pre-programmed method 0.25 – 250.00µg/L SiO ₂	Custom calibration 0.50 – 25.00µg/L SiO ₂
Method standard deviation [µg/L]	± 0.790	± 0.185
Method coefficient of variation [%]	± 0.62	± 1.44
Confidence interval (P=95 %) [µg/L]	± 3.33	± 0.45

1.44%値における方法の変動係数は、事前プログラム法でのその2.5倍になっています。これは、カスタム校正の結果、低濃度測定領域での偏差が相対的に大きな影響を持つためです。一方、標準偏差値と信頼区間値が示すように、絶対値を見ればカスタム校正手順での方法誤差の方が圧倒的に小さい可能性があります。カスタム校正での方法標準偏差とP=95%信頼区間は、プログラム法でのそれらより76% (標準偏差)、86% (信頼区間) 低くなっています。

ユーザー設定の検量線を用いて標準溶液添加を評価すると、期待される値まで偏差を減少させることができます。偏差の平均値は0.29µg/Lになり、元の値である0.94µg/Lからほぼ70%減ったことを示します。測定値を表3に示します。

表3 カスタム校正に照らして評価したケイ酸塩回収量

Sample	Addition [µg/L SiO ₂]	Recovered concentration [µg/L SiO ₂]	Deviation [µg/L SiO ₂]
Ultrapure water	1.00	0.70	0.30
	5.00	4.83	0.17
	10.00	10.28	0.28
Steam water from power plant	1.00	1.15	0.15
	5.00	5.42	0.42
	10.00	10.13	0.13
Boiler water from power plant	1.00	1.00	0.00
	5.00	5.12	0.12
	10.00	9.54	0.46
DI water	1.00	1.15	0.15
	5.00	4.97	0.03
	10.00	10.28	0.28
Double-distilled water	1.00	0.85	0.15
	5.00	6.45	1.45
	10.00	10.57	0.57

GF-AASとSpectroquant®ケイ酸塩試験の方法比較

標準溶液添加実験に加えて、GF-AAS法で5つのサンプル水のケイ酸塩含量を定量する参照分析も実施しました。GF-AAS法の定量限界 (LOQ) はブランク品の標準偏差の10倍を用いて測定し、1.93µg/L SiO₂という値を得ました。

表4に、プログラム法とカスタム校正で計算した、GF-AAS法での結果と光度定量法での結果の比較を示します。

表4 Spectroquant®ケイ酸塩試験101813の結果とGF-AAS参照分析の結果の比較

Sample	GF-AAS	Concentration [µg/L SiO ₂] Spectroquant® Silicate Test	
		Pre-programmed method	Custom calibration
Ultrapure water	< 1.93	< 0.25	< 0.25
Steam water from power plant	2.25	3.26	2.18
Boiler water from power plant	3.66	4.85	3.94
DI water	< 1.93	0.29	< 0.25
Double-distilled water	< 1.93	0.77	< 0.25

3つのサンプルをGF-AAS法によって測定したケイ酸塩濃度はLOQである1.93µg/L SiO₂より小さく、これはSpectroquant®試験キットでの測定結果でも裏付けることができます。

発電装置のサンプルはLOQを上回っており、GF-AAS法の結果はSpectroquant®試験キットの結果と同程度です。偏差はすべて、プログラム法とカスタム校正法の95%信頼区間に収まっています (表2参照)。標準溶液を添加する場合と同様に、カスタム校正が誤差をさらに減らすのに役立つことは明らかです。

まとめ

以上の結果から、Spectroquant®ケイ酸塩試験がプロセス水と脱イオン水中の低ppb領域でのケイ酸塩濃度値を定量できることが示されます。ケイ酸塩定量試験キットの精度で十分なユーザーは、プログラム法によってサンプルのケイ酸塩含量を素早く簡単に定量できます。

さらに高い方法精度が必要な場合は、ユーザー独自のカスタム検量線を作成することを推奨します。そうすれば、追加した添加量の平均偏差を70%近く減らせることが示されました。

使用した薬品および試薬

どの測定もProve 600分光光度計のアプリケーションに従って実施しました。利用した参照法は、Agilent社製SpectrAA 280Z計器を用いたグラファイト炉原子吸光分析法でした。

参考文献

1. Bahadori, A.; Vuthaluru, H.B. APPL THERM ENG **2010**, 30, 250-253.
2. The International Association for the Properties of Water and Steam, Technical Guidance Document: *Steam Purity for Turbine Operation*, **2013**.
3. Zhou, S.; Turnbull, A. *Steam Turbine Operating Conditions, Chemistry of Condensates, and Environment Assisted Cracking – A Critical Review*, NPL Report MATC (A) 95, **2002**.
4. Mustafa, A.I. IJCT **2007**, 14, 195-199.
5. Koch, O.G., Koch-Dedic G.A., *Handbuch der Spurenanalyse 2*, Springer-Verlag, **1974**.
6. Package leaflet for the Spectroquant® Silicate (Silicic Acid) Test, Cat. No. 101813, April 2016.

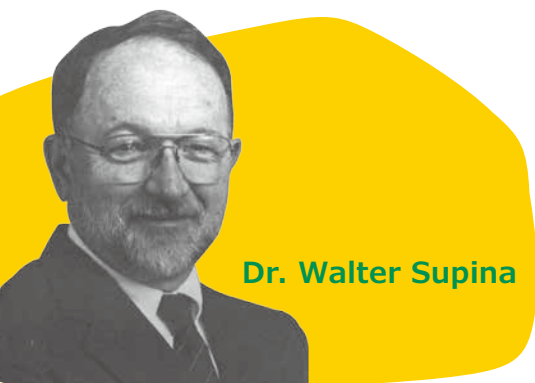
使用した製品

製品名	容量・サイズ	カタログ番号
Spectroquant® Silicate (Silicic Acid) Test, 0.25 - 500.0µg/L SiO ₂	100 tests	101813
Silicon standard solution, 1000 mg/L Si, Certipur®	100mL, 500mL	112310
Water Ultrapure	500mL, 1 L	101262

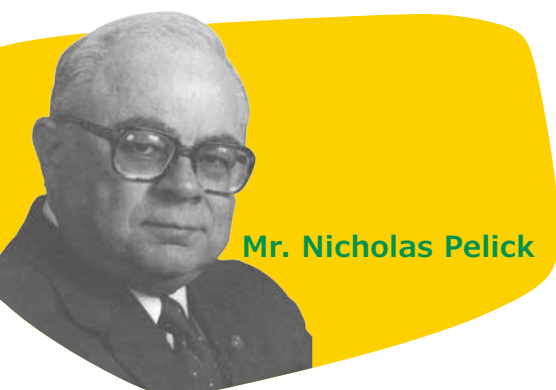
すべての市販Spectroquant®試験キットのリストについては、<https://bit.ly/photometry-test-kits>をご覧ください。

Spectroquant® Prove分光光度計の詳細については、<https://bit.ly/spectroquant-prove>をご覧ください。

Supelco®創設者が2019 Pittconヘリテージアワードを受賞



Dr. Walter Supina



Mr. Nicholas Pelick

Supelco®の創設者であるWalter Supina博士とNicholas Pelick氏は、分析装置および実験用品コミュニティへの貢献を認められ、名誉ある2019 Pittconヘリテージアワードを受賞しました。これによって彼らも、Arnold Beckman、James Waters、RussellおよびSigurd Varianといった先駆者の仲間に入りました。

Pittconヘリテージアワードについて

Pittconヘリテージアワードは、ケミカルヘリテージ財団と、分析化学と応用分光法に関するピッツバーグ会議(Pittcon)が分析装置および実験用品コミュニティへの顕著な貢献を評価して毎年授与します。

その長期的な目標は、Pittconヘリテージアワードを分析装置および実験用品コミュニティの主要な賞として確立すること、競争を奨励すること、達成感を喚起すること、ならびに現代科学、産業、および経済に対する一般社会の理解を促進することです。

賞は2002年からPittconと合同で授与され、毎年Pittcon期間中の特別なセレモニーで発表されます。受賞者の名前と業績がPittconの殿堂に追加され、会議の参加者は毎年のショーでそれを観る事ができます。

分析化学の歴史に名を残す

実用的な分析ツールとしてのクロマトグラフィーは1960年代に商業化され始めました。分析装置メーカーがガスクロマトグラフを開発して新しい市場に投入しようとする中、Walter (Walt) と Nicholas (Nick) は、これらの装置性能を最大限に高めるための消耗品であるカラム、標準品、試薬、および付属品をお客様に提供する先駆者になろうとしました。ガスクロマトグラフィー (GC) には精製した脂質標準品を医学研究に提供する可能性があることを認識したWaltとNickは、それぞれ化学工学と脂質生化学教育のバックグラウンドを持ち寄って1966年にSupelcoを設立しました。パックドGC用吸着剤とカラム、および脂質標準品に焦点を当てた製品から始まった彼らのイノベーションと成長は、新しいクロマトグラフィー分野を切り開きました。WaltとNickは、1971年にSupelco社から炭素吸着剤、1977年にキャピラリーGCカラムを市場に導入、1979年にはHPLC分野、1983年には大気環境モニタリング分野、1985年には分析試料調製分野に参入しました。Supelco社は多くの「世界初」製品を市場に送り出しましたが、それらはそれぞれお客様が直面していた分析上の具体的な課題を解決する粒子、カラム、表面化学、および装置周りを革新するものでした。他の同業者が参入しては消える中、Supelco社は今日も存続し、ダルムシュタット(ドイツ)のMerck KGaAの一員としてなおイノベーションを起こし、世界の分析コミュニティに貢献し続けています。長い年月と変化の中でも、Supelco®がお客様を見失ったことはありません。Nickは、「我々は、あらゆる努力を払ってお客様第一であることを示そうとしてきました。劣った製品は決して売りません。決して妥協しません。」と言っ

RIPPED FROM THE HEADLINES...



The 1969 ground-breaking for the first building constructed for Supelco involved co-founders Dolly and Nick Pelick (far left), Lee and Walt Supina (far right), and two state legislators (center).



SUPELCO, INC.

たことが引用されました。それを強調するように、Supelcoのブランド名は現在Merck KGaAのポートフォリオの中ですべての分析(クロマトグラフィー、分光法、滴定法など)製品を表すのに使用されています。WaltとNickが作り上げたのはイノベーション、品質、およびお客様サービスの文化に対する真の証しであり、お客様に対する彼らの情熱と技術的リーダーシップ構想の成果としてのイノベーションは広範囲に及びます。

一般社会の理解を深めるための重要な貢献

教育を通して

WaltとNickほど、早い段階でクロマトグラフィーに対する一般社会の理解を深めようとした人はいません。今ではごく当たり前と考えられますが、当時は極めて斬新であった1つの例は、彼らが奨励して設けられたSupelcoクロマトグラフィー短期コースです。このコースは、あらゆるレベルのユーザーに実用的な教育を与えることを目的にしていました。Waltはまた、「ガスクロマトグラフィーに使用する充填カラム」という本も書きました。この本は、Waltが1971年に教え始めたカラム選択短期コースに基づいて1974年に初版が出版されました。Supelcoチームは、ワークショップ、トレーニング、オンラインセミナー、世界にまたがるお客様の拠点、トレードショー、および業界イベントで実施し続けています。WaltとNickは奉仕についても教えてくれました。その結果、当社の科学チームの多くのメンバーが幅広い業界グループと規制機関に貢献しています。

当社は、ケミカルヘリテージ財団と、分析化学と応用分光法に関するピッツバーグ会議がWalter Supina博士とNicholas Pelick氏に2019 Pittconヘリテージアワードを授与したことを名誉に思います。

品質とイノベーションを体現する会社を設立したWaltとNickに感



Source: © 2019 Roy Engelbrecht - royphoto.com

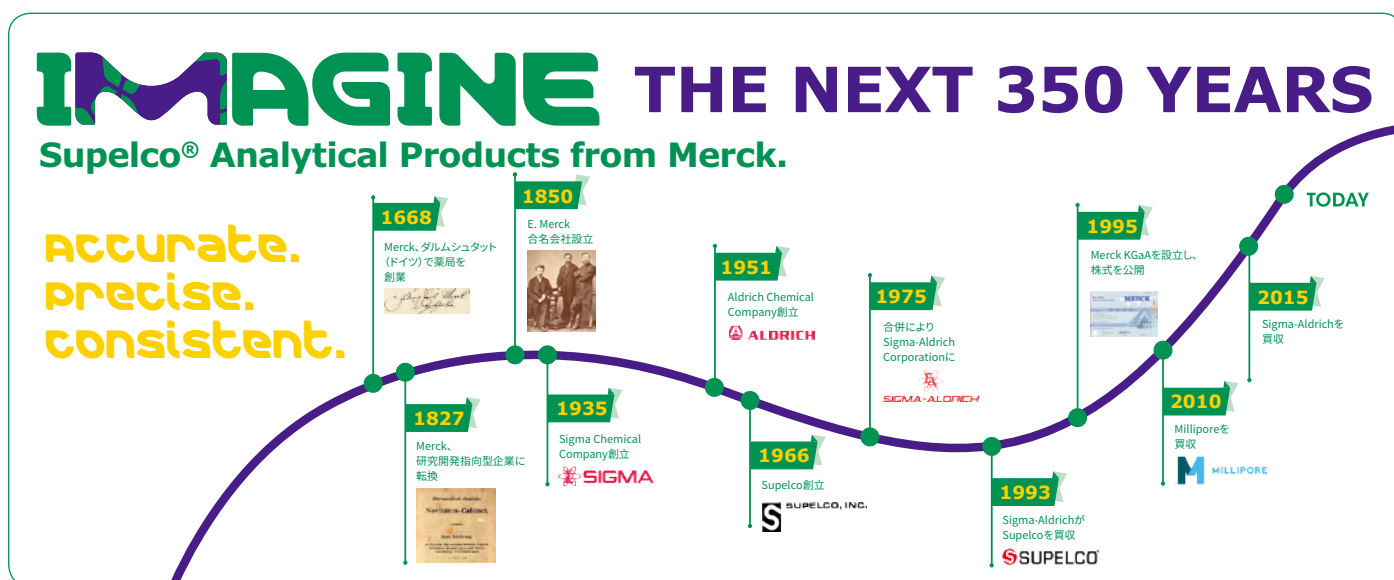
Award was accepted by Walt's son, Dick and Nick's daughter, Daria

謝します。あなた方の遺産はメルクのSupelco分析製品ポートフォリオの中に生きています。

当社はメルクの350周年を祝い、さらにこの先の350年にわたって分析化学者のために分析化学者が作る妥協のない高品質の分析製品を生み出していきます。

当社の高い分析技術は皆さんの分析のお悩み事にこれからもずっと寄り添い、応え続けます。

<https://www.sigmaaldrich.com/japan/analytical-chromatography.html>

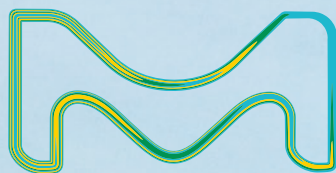


Supelco® ブランドの滴定製品 Exquisite accuracy. Every time.

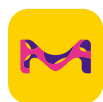
高い分析水準を維持するためには、
レギュレーション、専門知識を持ったスタッフと
信頼できる製品が必要です。

スぺルコブランドの滴定試薬、溶媒、
標準物質、指示薬はレギュレーションに
対応するようにデザインされています。
完璧なパフォーマンスには、
スぺルコブランドの滴定製品を
試してみてください。

スぺルコブランドの滴定試薬はこちらから。
<https://bit.ly/titration-jp>



Supelco®
Analytical Products



サイエンス系
お役立ちメディア
M-hub



かんたんカタログ検索
**カタログ
ファインダー**



メルクライフサイエンス - メールニュース
www.merckmillipore.com/wm



メルクライフサイエンス公式
SNS、動画コンテンツをご覧ください。

本紙記載の製品は試験・研究用です。ヒト、動物への治療、もしくは診断目的として使用しないようご注意ください。掲載価格は希望販売価格（税別）です。実際の価格は弊社製品取扱販売店へご確認ください。なお、品目、製品情報、価格等は予告なく変更される場合がございます。予めご了承ください。記載内容は2020年8月時点の情報です。Merck, the vibrant M, and Supelco are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. ©2020 Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved.

シグマ アルドリッチ ジャパン リサーチ事業部

〒153-8927 東京都目黒区下目黒 1-8-1 アルコタワー 5F

製品の最新情報はこちら www.sigma-aldrich.com/japan

製品に関するお問い合わせは、テクニカルサービスへ
E-mail: jpts@merckgroup.com Tel: 03-6756-8245

在庫照会・ご注文に関するお問い合わせは、カスタマーサービスへ
E-mail: sialjpcs@merckgroup.com Tel: 03-6756-8275 Fax: 03-6756-8301

シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社はメルクのグループ会社です。

AAM066-2009-8K-E