

Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラムによるマスク中の 蛍光増白剤の分析

著者

Rongjie Fu
Agilent Technologies
(Shanghai) Co. Ltd.

Xia Wu
Agilent Technologies
(China) Co. Ltd.

概要

Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm、4 μm) で、グラジエント HPLC メソッドと FLD 検出を用いて 9 種類の蛍光増白剤化合物を分析しました。このメソッドを、全多孔質粒子カラム (Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl) を用いたメソッドと比較しました。また、粒子径の小さい短いカラム (Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl、3.0 × 100 mm、1.9 μm) でも同じメソッドを用いて分析し、比較しました。分析対象のすべての蛍光増白剤化合物が、すべてのカラムでよく分離されました。

はじめに

蛍光増白剤は淡彩の有機化合物に対しては無色です。蛍光増白剤はプラスチック、ラッカー、塗料、インク、現像液、繊維で使用され、色やマスクの黄ばみを明るくすることができます。蛍光増白剤は食品や化粧品などの一般消費財では使用が禁止されている添加剤ですが、フェイスマスクの材料となる繊維への添加は許可されています。中国の規制¹では、子供用マスクにこれらの化合物を使用することが禁止されており、流動性の蛍光増白剤が含まれないことを証明する必要があります。

このアプリケーションノートでは、Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 250 mm, 5 μm) と Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm, 4 μm) を使用し、LC/FLD を用いたグラジエントメソッド²によって、9 種類の蛍光増白剤を分析しました。また、粒子径が小さく短い UHPLC カラム (Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm) でも同じメソッドを用いて分析し、比較しました。

実験方法

試薬および調製

試薬はすべて、HPLC グレード以上のものを使用しました。HPLC グレードのメタノールとアセトニトリルは Merck (ピレリカ、マサチューセッツ州、米国) から購入しました。水は、ELGA PURELAB Chorus システム (ハイ・ウィカム、英国) を使用して精製しました。酢酸アンモニウムは Sigma-Aldrich から購入しました。標準液は Anpel Laboratory Technologies (上海、中国) から購入しました。標準混合溶液は、蛍光増白剤化合物をアセトニトリルに溶かして調製しました。個々の化合物の個別の濃度を表 1 に示します。

機器と材料

- **カラム入口** : Agilent InfinityLab クイックコネクタ LC フィッティング (部品番号 5067-5965)
- **カラム出口** : Agilent InfinityLab クイックターン LC フィッティング (部品番号 5067-5966)
- Agilent バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定、2 mL (部品番号 5182-0716)
- Agilent 圧着スクリュキャップ、圧着、青、PTFE/赤シリコンセプタム (部品番号 5190-7024)
- Agilent InfinityLab 溶媒ボトル、茶色、1 L (部品番号 9301-6526)

- Agilent InfinityLab セーフティキャップ、GL45、3 ポート、1 ベントバルブ (部品番号 5043-1219)
- Agilent Captiva エコノフィルタ、PTFE メンブレン、直径 13 mm、ポアサイズ 0.2 μm (部品番号 5190-5265)

装置構成

次のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity II ハイスピード構成 LC システム、超低分散キット (5067-5189) 付 :

- Agilent 1290 Infinity II ハイスピードポンプ (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
- Agilent 1260 Infinity II FLD スペクトル (G1321B)

次のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity II フレキシブル構成 LC システム :

- Agilent 1290 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104A)
- Agilent 1290 Infinity II マルチサンブラ (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116B)
- Agilent 1260 Infinity II FLD (G7121A)

表 1. このアプリケーションノートで分析対象となっている蛍光増白剤標準化合物

番号 (溶出順序)	名前	CAS	濃度 (μg/mL)
1	蛍光増白剤 220	16470-24-9	5.24
2	蛍光増白剤 85	12224-06-5	0.912
3	蛍光増白剤 113	12768-92-2	5.12
4	蛍光増白剤 351	38775-22-3	0.332
5	蛍光増白剤 71	16090-02-1	0.945
6	蛍光増白剤 162	3271-05-4	0.937
7	蛍光増白剤 140	61968-71-6	0.995
8	蛍光増白剤 135	1041-00-5	0.0968
9	蛍光増白剤 199	13001-40-6	0.931

表 2. LC の分析条件

カラム	移動相の組成	最適なグラジエント	流量 (mL/min)	注入量 (μL)	サーモスタット付カラム コンパートメント (°C)	FLD
Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl, 4.6 × 250 mm、5 μm	A) 20 mM 酢酸 アンモニウム水溶液 B) アセトニトリル: メタノール (4:1)	時間 (分) A% B% 0 95 5 1 95 5 5 70 30 15 50 50 16.7 10 90 21.7 20 90 21.8 95 5 26.7 90 5	1.0	8	25	Ex 365 nm、 Em 430 nm @4.63 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 4.6 × 150 mm、4 μm		時間 (分) A% B% 0 95 5 0.6 95 5 3 70 30 9 50 50 10 10 90 13 10 90 13.1 95 5 16 95 5	1.0	5	25	Ex 365 nm、 Em 430 nm @4.63 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl, 3.0 × 100 mm、1.9 μm		時間 (分) A% B% 0 95 5 0.2 95 5 1 70 30 3 50 50 4 10 90 5 10 90 5.01 95 5 6.0 95 5	0.8	1.4	25	Ex 365 nm、 Em 430 nm @74 Hz

結果と考察

Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 250 mm、5 μm) で開発されたメソッドでは、すべての蛍光増白剤でベースライン分離が見られました。効率を上げて溶媒消費量と分析時間を減らすため、同じ相の表面多孔質粒子 (SPP) カラムに、このメソッドを移管しました (図 1 を参照)。150 mm の短い InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラムを使用した場合、分解能は 250 mm の ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl カラムとほぼ同じでしたが、分析時間は 40 % 短くなりました。分析時間が短くなるのは、4 μm の表面多孔質粒子カラムの効率性が 5 μm の全多孔質粒子 (TPP) カラムの 2 倍であるためです。このような分解能のメリットを別の目的に使用することもできます。例えば、クリティカルピークペアの分解

能が不十分な場合は、5 μm の TPP カラムの代わりに 4 μm の SPP カラムを使用して、既存メソッドの効率性と分解能を上げることができます。今回は、既存メソッドやカラム寸法を変更する必要はありませんでした。

このメソッドを、粒子径が小さく短い SPP カラム (Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl、3.0 × 100 mm、1.9 μm) を用いた分析にも使用しました。InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl (3.0 × 100 mm、1.9 μm) を使用すると、InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl (4.6 × 150 mm、4 μm) を使用した場合より分析時間が 56 % 短くなりました。また、粒子径に対するカラム長の比率が大きくなるため、分解能も向上しました (図 2)。1.9 μm の表面多孔質粒子カラムの効率性は、1.8 μm の表面多孔質粒子カラムより 20 % 向上します。ただし、低容量のキャピラリーとフローセルで機器を構成し、最大限の分解能を発揮できるようにする必要があります。³

図 3 は、InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm、4 μm) で改良グラジエントメソッドを用いて 6 回連続注入したクロマトグラムを重ね表示したものです。この結果から、再現性が優れていることがわかります。実際のサンプル前処理方法は次のとおりです。1.0 g のカットしたマスク片 (5 × 5 mm) を 70 % の DMF 20 mL と一緒に 50 mL の計量フラスコに入れ、50 °C で 40 分間超音波粉碎して抽出します。冷却後に、液体の上澄みを取り、Agilent Captiva エコノフィルタ PTFE メンブレンを用いてろ過し、サンプルバイアルに注入して、HPLC で分析します (図 4)。サンプル中にターゲット化合物は検出されませんでした。

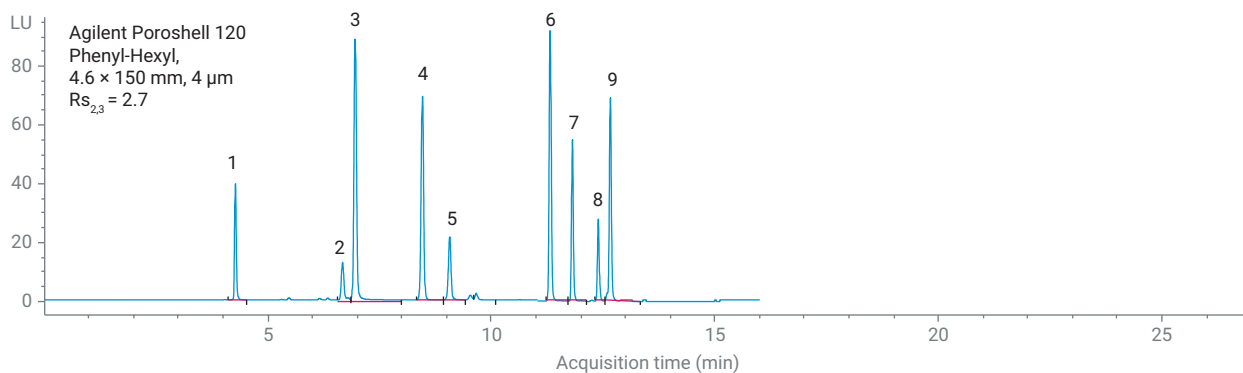
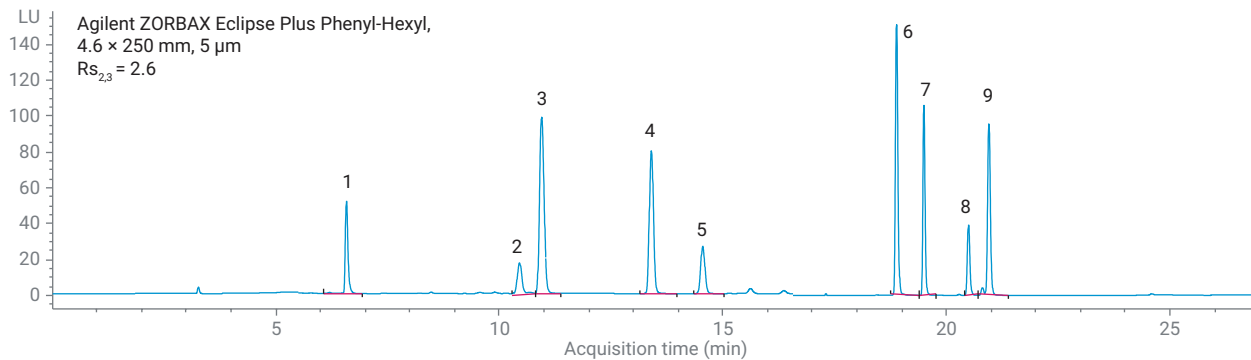


図 1. Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 250 mm、5 μm) と Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm、4 μm) による標準のクロマトグラムの比較

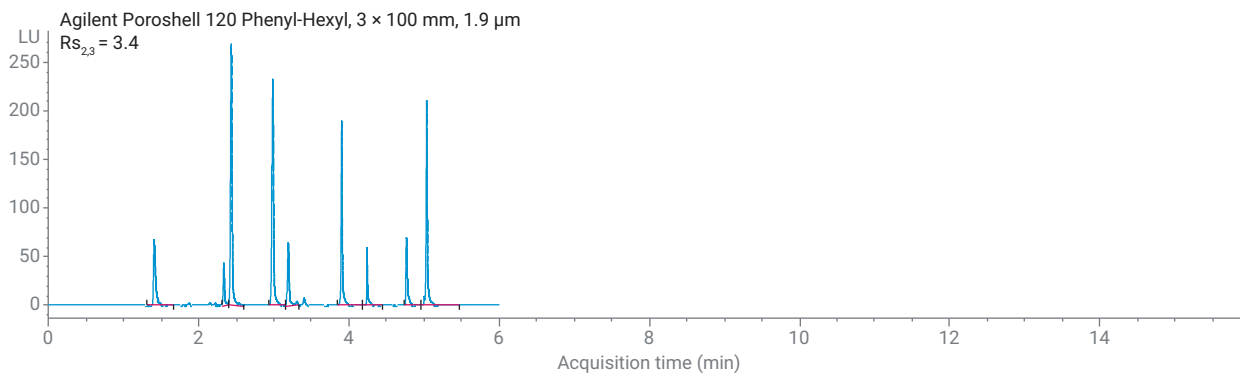
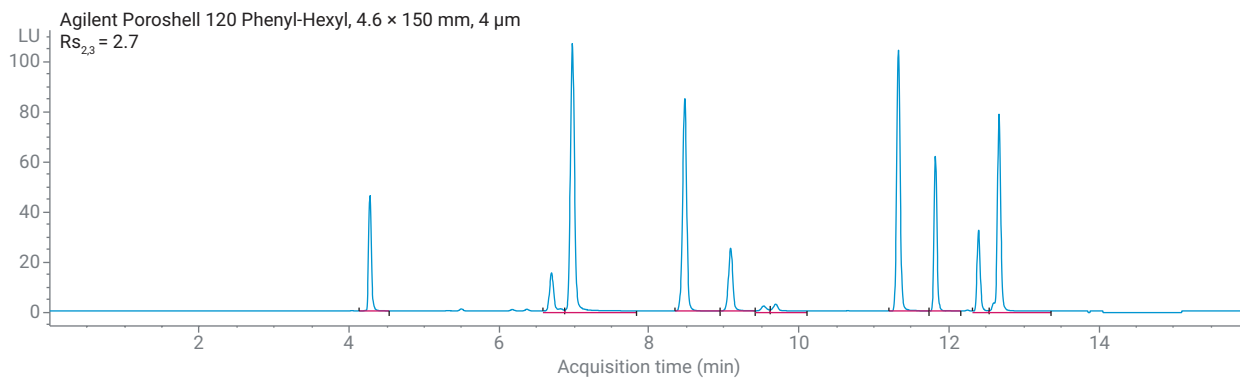


図 2. Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm、4 μm) を Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (3.0 × 100 mm、1.9 μm) にサイズ変更した場合のメソッドのクロマトグラム

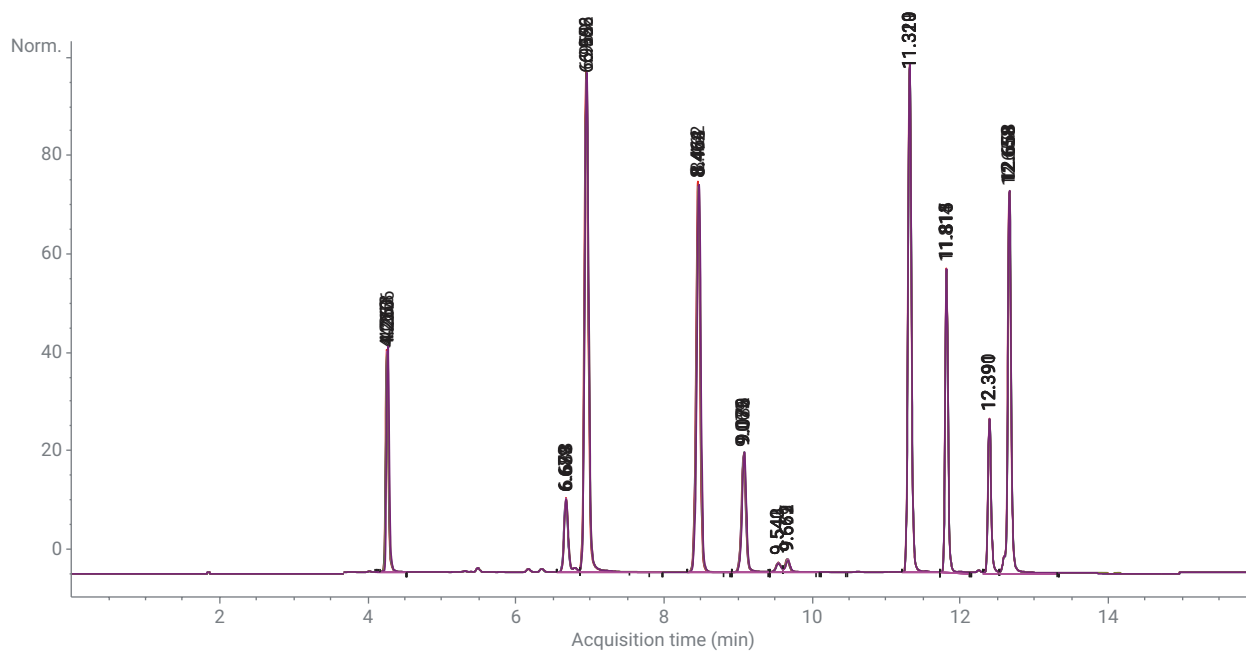


図 3. Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm、4 μm) で蛍光増白剤標準を 6 回連続注入したクロマトグラムの重ね表示

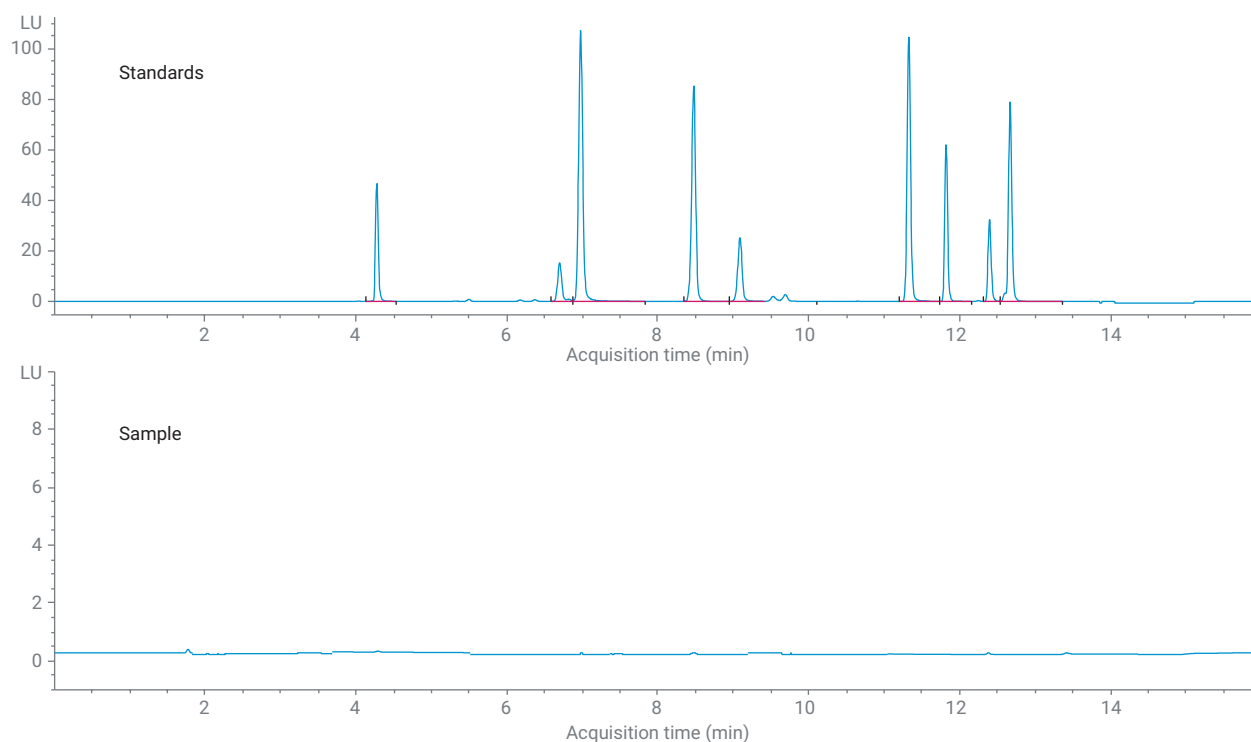


図 4. Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4.6 × 150 mm、4 μm) によるマスクサンプルの分析

結論

Agilent ZORBAX 全多孔質カラムから Agilent InfinityLab Poroshell 120 Phenyl-Hexyl カラム (4 μm) への置き換えは簡単であり、分解能を維持しながら分析時間を短縮できます。4 μm カラムで最適化されたメソッドを、フェイスマスクに含まれる蛍光増白剤のルーチン分析に使用できます。高効率な Agilent InfinityLab Poroshell 120 1.9 μm カラムは、短い分析時間で高い分解能を実現できる、強力なクロマトグラフィー分離ツールです。

参考文献

1. Technical Specification of Children Mask, China Standard, GB-T 38880-2020.
2. Hu Yiguang; Zhang Xianchen; and Wang Jingli. Detection of Several Common Fluorescent Whitening Agent in Cotton Textiles. Cotton Textile Technology, 44(4), 39.
3. Anne Mack. Instrument, Method, and Sample Optimizations to Get the Most from Agilent InfinityLab Poroshell 120, 1.9 μm Columns. Agilent Technologies application note, publication number 5991-7560EN (2017).

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2020
Printed in Japan, December 4, 2020
5994-2872JAJP
DE44147.0440509259