

Agilent 8890 GC と Agilent JetClean 付き MSD によるメソッド GB 5009.271-2016 での フタレートの分析

著者

Jie Zhang
Agilent Technologies Co. Ltd
Shanghai

概要

フタレートは発がん性物質を含むものもあり、消費者が摂取することのないよう、食品中のフタレート分析を実施することが非常に重要です。このアプリケーションノートでは、Agilent 8890 GC と Agilent 5977B MSD を組み合わせて、中国国内の食品安全性標準メソッド GB 5009.271-2016 に従ってフタレート分析を実施しました。その結果、このシステムの優れた再現性と感度が実証されました。

はじめに

プラスチックは食品の鮮度を長期間保つように設計されています。フタレートなどの一部の化合物をプラスチックに添加すると、プラスチックが柔らかくてしなやかになります。これにより、さまざまな形状のプラスチックを製造しやすくなります。しかし、プラスチックを食品パッケージや容器に使用した場合、これらの添加物が食品に溶出します。フタレートには人の健康に害を及ぼすものもあります。例えば、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル) (DEHP) は内分泌かく乱物質で、がんを引き起こす可能性があります。人の生殖や発育に影響を及ぼす可能性のあるフタレートもあります。したがって、フタレートの摂取をコントロールし、フタレートに関連する健康被害から消費者を守るためには、食品中のフタレートの分析が必須です。

メソッド GB 5009.271-2016¹ は、食品中のフタレート分析における中国の標準メソッドです。このメソッドには、サンプル前処理、定性/定量分析メソッド、分析の精度や検出限界などの要件が示されています。Agilent 7890 GC システムはフタレート分析に広く用いられているプラットフォームです²。新たにリリースされた 8890 GC と MSD 検出を用いたフタレート分析により、再現性、感度、直線性に関する 8890 GC の優れた性能を実証します。

実験方法

装置

スプリット/スプリットレス注入口付きの 8890 GC と JetClean セルフクリーニングイオン源付きの Agilent 5977B で分析を実施しました。Agilent 7693A シリーズオートサンプルも使用しました。

試薬

16 成分のフタレート混合物 (CDGG-111846-01-1 mL) は、ANPEL Laboratory Technologies (上海) Inc. から購入しました。各成分の濃度はヘキサン中 1,000 ng/μL でした。

3 つの単一の標準物質、フタル酸ジイソノニル (DINP)、フタル酸ジアリル (DAP)、フタル酸ジイソデシル (DIDP) は、ANPEL Laboratory Technologies (上海) Inc. から購入しました。濃度は、DIDP が CH₂Cl₂ 中 1,000 ng/μL、DINP がヘキサン中 100 ng/μL でした。DAP は純粋で、16 成分の混合物に溶解し、ヘキサン中 500 ng/μL の濃度にしました。

標準溶液は GB 5009.271-2016 要件に従って、17 種類のフタレートを 7 つの濃度 (ヘキサン中 10、20、50、100、200、500、1,000 ng/mL) に調製しました。DIDP および DINP の異性体は 8 つの濃度 (125 ng/mL、250 ng/mL、500 ng/mL、1 ng/μL、2.5 ng/μL、5 ng/μL、10 ng/μL、20 ng/μL) に調製しました。

表 1. 分析条件

GC システム	8890A GC
S/SL 注入口	280 °C、モード: スプリットレス、スプリットベントへのパージ流量: 0.5 分で 60 mL/min
ライナ	スプリットレス、ウルトライナート、ウールなし (p/n 5190-2292)
オープン昇温プログラム	60 °C (1.5 分間)、 20 °C/min で 220 °C まで昇温 (1 分間)、 5 °C/min で 280 °C まで昇温 (4 分間)
キャリアガス	ヘリウム
カラム	1.2 mL/min、定流量モード、 Agilent J&W HP-5ms, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (19091S-433)
MSD	5977B GC/MSD
JetClean イオン源温度	320 °C
MS 四重極	180 °C
GC/MS インタフェース	280 °C
JetClean	測定およびクリーニングモード、H ₂ : 0.13 mL/min
測定タイプ	SIM
ゲイン係数	0.5

結果と考察

メソッド GB 5009.271-2016 で 18 種類のフタレート分析了。17 成分は同一の分析で、DINP の異性体は別の分析でテストしました。DIDP をリストに追加したのは、子ども向け玩具や育児用品について EU および EPA メソッドで分析が必要な 7 つの重要な

フタレートのうちの 1 つだからです。DIDP と DINP のテストは同一の分析で実施しました。MSD は選択イオンモニタリング (SIM) モードで操作しました。各ターゲット化合物の定量イオンと確認イオンを表 2 に示します。

表 2A. 1~17 のフタレートの定量および確認イオン、MDL、定量下限 (LOQ)、リテンションタイム (RT)/面積精度

ピーク番号	名前	RT (分)	RT RSD%	定量	確認	50 ppb での面積 RSD%	1 ppm での面積 RSD%	MDL (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	*実際のサンプルでの LOQ (mg/kg)
1	DMP	8.119	0.001	163	77,194,133	4.3	2.4	6.24	21.55	0.22
2	DEP	8.984	0.001	149	177,105,222	4.3	2.3	6.24	21.53	0.22
3	DAP	9.880	0.011	149	41.132,189	4.6	2.6	6.71	23.17	0.23
4	DIBP	10.685	0.001	149	223,104,167	4.5	2.1	6.51	22.49	0.23
5	DBP	11.41	0.010	149	223,205,104	4.6	2.1	6.68	23.06	0.23
6	DMEP	11.733	0.013	149	59,104,176	3.8	2.1	5.48	18.93	0.19
7	BMPP	12.473	0.009	149	167,85,251	4.6	2.2	6.66	22.99	0.23
8	DEEP	12.783	0.008	149	72,104,193	4.3	2.2	6.35	21.92	0.22
9	DPP	13.150	0.008	149	234,219,104	4.6	1.9	6.67	23.04	0.23
10	BBP	15.392	0.006	149	104,251,233	4.3	2	6.20	21.4	0.21
11	DHXP	15.249	0.012	149	91,104,206	4.7	1.8	6.86	23.68	0.24
12	DBEP	16.834	0.010	149	85,101,193	4.7	1.9	6.76	23.35	0.23
13	DCHP	17.485	0.007	149	104,167,249	4.4	2	6.42	22.15	0.22
14	DPHP	17.829	0.009	225	77,104,153	3.8	1.8	5.44	18.79	0.19
15	DEHP	17.725	0.012	149	167,279,113	4.5	1.9	6.54	22.58	0.22
16	DNOP	20.105	0.010	149	261,104,279	4.7	1.7	6.76	23.33	0.23
17	DNP	22.595	0.011	149	275,167,293	4.3	1.7	6.17	21.29	0.21

* LOQ: JetClean MSD 検出付きの 8890 GC で検出できる実際のサンプル中のフタレートの LOQ。各化合物の機器の LOQ ではありません。実際のサンプル中のフタレートの濃度の計算については、本文の「結果と考察」をご覧ください。

表 2B. フタレート 18 および 19 の定量イオン、確認イオン、MDL、LOQ、リテンション RT/面積精度

ピーク番号	名前	RT (分)	定量	確認	250 ppb での面積 RSD%	1 ppm での面積 RSD%	MDL (ng/L)	LOQ (ng/mL)	*実際のサンプルでの LOQ (mg/kg)
18	DINP	19.00 ~ 22.8	293	149,167	8.1	2.0	60	207	2.07
19	DIDP	20.3 ~ 24.7	307	149,167	5.2	2.3	37	127.7	1.28

* LOQ: JetClean MSD 検出付きの 8890 GC で検出できる実際のサンプル中のフタレートの LOQ。各化合物の機器の LOQ ではありません。実際のサンプル中のフタレートの濃度の計算については、本文の「結果と考察」をご覧ください。

図 1 に 100 ng/mL での 17 種類のフタレート混合物を分析した SIM による全イオン電流クロマトグラム (TICC) を示します。図 2 に 1,000 ng/mL での DINP (m/z 293) と DIDP (m/z 307) の抽出イオンクロマトグラムを示します。

8890 GC と 5977B GC/MSD を組み合わせたシステムの再現性を評価するために、50 ng/mL と 1,000 ng/mL の 17 成分の標準溶液を 8 回注入しました。表 2A に RT および面積 RSD% を示します。RT 精度は 0.013 % 未満で、面積精度は 5 % 未満です。RT および面積精度は非常に良好で、8890 GC システムの優れた再現性を実証しています。表 2B に、250 ng/mL と 1,000 ng/mL での DINP および DIDP の面積 RSD% を示します。DINP と DIDP の濃度 250 ng/mL は、機器の LOQ に非常に近い濃度です。この濃度での DINP と DIDP の面積精度は 8.1 % と 5.2 % で、5 % を上回っていますが、許容範囲内でした。1,000 ng/mL での異性体の面積精度ははるかに優れており (約 2 %、表 2B に示す)、これは実際のサンプルの 10 mg/kg に相当します。メソッド GB 5009-271.2016 で規定されている DINP の LOQ 要件は 9 mg/kg です。このため、8890A GC と 5977B GC/MSD を組み合わせたシステムでの 10 mg/kg における定量精度 2 % は、GB メソッドの精度要件を満たしています。

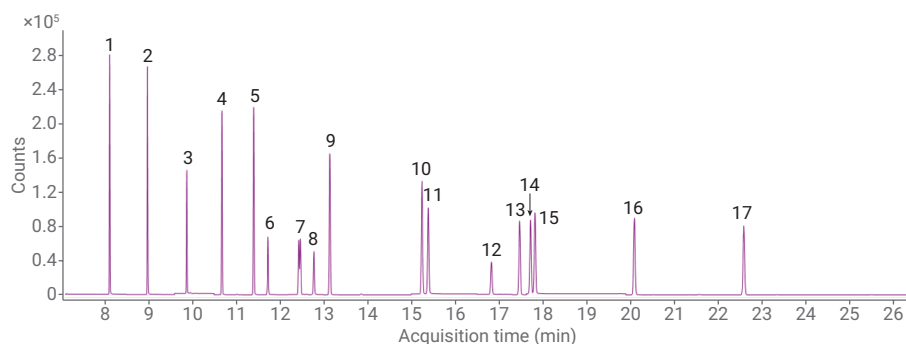


図 1. 17 種類のフタレートの 100 ng/mL での SIM による TICC

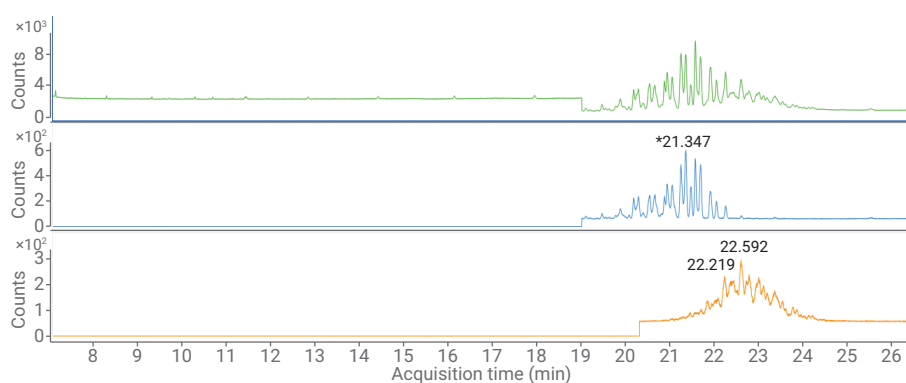


図 2. 1,000 ng/mL での DINP および DIDP の SIM による TICC、DINP (293)、DIDP (307) の EIC

メソッド GB 5009.271-2016 では、ESTD メソッドに基づいてターゲット化合物であるフタレートを定量します。要求される濃度範囲での各化合物の検量線を作成しました。表 3 に 19 成分の CF 式と回帰係数を示します。このうち 11 成分が CF $R^2 > 0.999$ で、すべての分析対象物が CF $R^2 > 0.995$ でした。これはシステムの直線性が良好であることを示して

おり、測定した濃度範囲での定量精度が実証されました。図 3 に、DEHP、DBP、DINP の代表的な検量線を示します。図 4 に、17 種類のフタレートのクロマトグラムの直線性を示します。

19 種類のフタレートの最小検出限界 (MDL) を、100 ng/mL (17 成分) と 250 ng/mL (DINP と DIDP) での面積精度をもとに算出し

ました。表 2A に示したように、17 種類のフタレートの MDL は 10 ng/mL 未満で、DINP と DIDP の MDL はそれぞれ、60 および 37 ng/mL でした。

表 3. 19 種類のフタレートの CF 式および回帰係数

No.	名前	CF 式	CF R^2
1	DMP	$y = 199.504382 * x + 695.067257$	0.9982
2	DEP	$y = 185.904431 * x + 1099.377738$	0.9976
3	DAP	$y = 48.068831 * x + 376.812846$	0.9992
4	DIBP	$y = 232.335499 * x + 3964.550726$	0.9961
5	DBP	$y = 266.384785 * x + 5378.384109$	0.9959
6	DMEP	$y = 14.884421 * x - 32.446533$	0.9993
7	BMPP	$y = 57.737792 * x + 173.986931$	0.9983
8	DEEP	$y = 25.819984 * x - 66.764028$	0.9958
9	DPP	$y = 266.152211 * x + 523.721885$	0.9990
10	BBP	$y = 93.545344 * x + 142.589035$	0.9993
11	DHXP	$y = 246.701295 * x + 448.673543$	0.9991
12	DBEP	$y = 35.263473 * x - 37.645718$	0.9993
13	DCHP	$y = 149.824348 * x + 338.494432$	0.9990
14	DPHP	$y = 152.579320 * x + 338.765271$	0.9990
15	DEHP	$y = 131.034535 * x + 904.491548$	0.9993
16	DNOP	$y = 206.143514 * x + 183.612878$	0.9993
17	DNP	$y = 189.772836 * x + 121.872605$	0.9992
18	DINP	$y = 10.362 * x + 408.24$	0.9983
19	DIDP	$y = 11.212 * x + 733.4$	0.9981

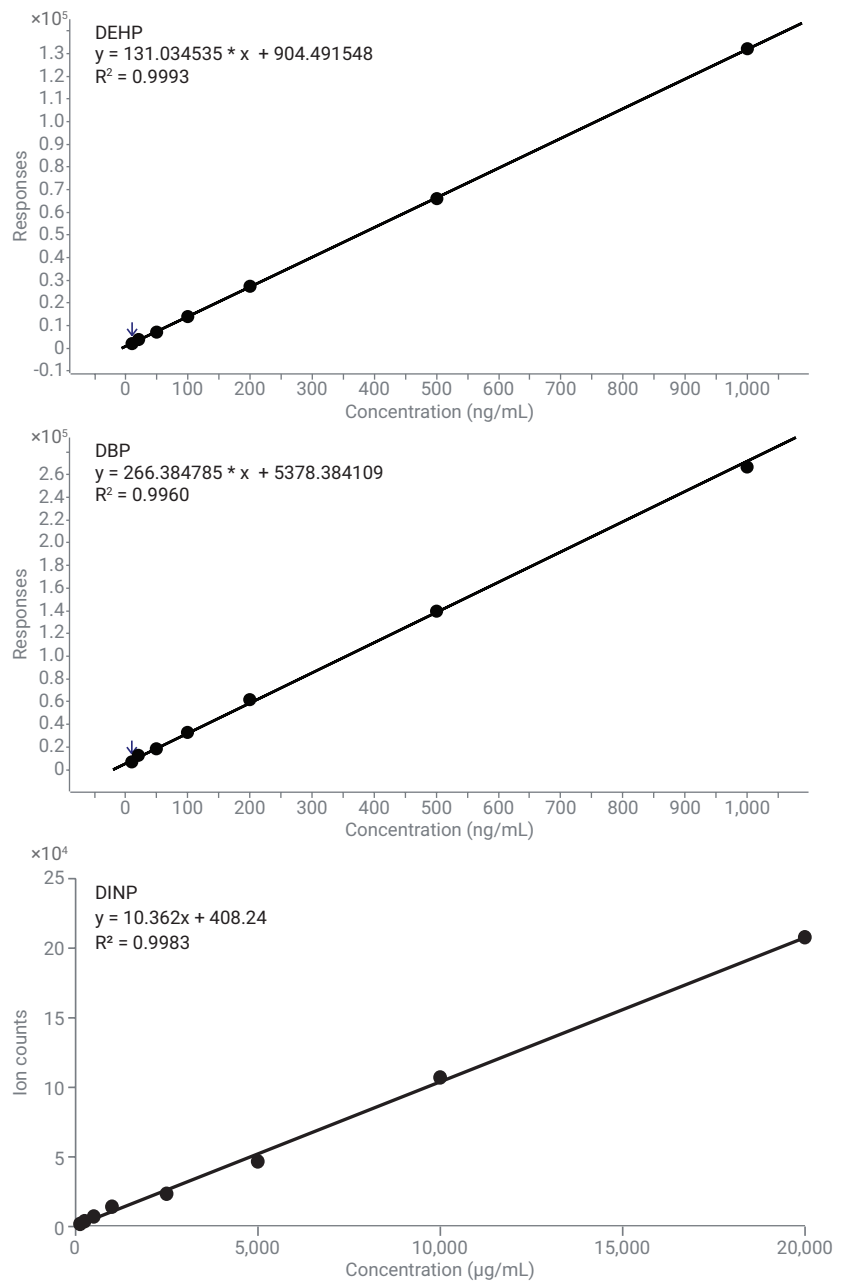


図 3. DEHP、DBP、DINP の検量線

メソッド GB 5009.271-2016 に記載されたサンプル前処理メソッドでは通常、0.5 または 1 g の実際のサンプルを 5 または 10 mL の抽出溶媒で抽出し、クリーンアップした抽出物を GC/MS システムに注入して分析します。実際のサンプルのフタレートの濃度を、次の式に従って算出します。

X = 実際のサンプル中のフタレートの濃度 (mg/kg)

V = サンプルの最終容量 (mL)

$$X = \rho \times \frac{V}{m} \times \frac{1,000}{1,000}$$

m = サンプル重量 (g)

ρ = 検量線から算出したフタレートの濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

機器の MDL と上記の式に基づき、8890 GC と 5977B GC/MSD を組み合わせたシステムで分析した 18 種類のフタレート (DIDP はメソッド GB 5009.271-2016 で必須ではないため含まれていません) の LOQ は、メソッド GB 5009.271-2016 の定量下限要件を優に下回っています。

このアプリケーションノートでは、JetClean 仕様のオンライン測定とクリーニングモードを使用しました。この機能を切り替えるには、実際のマトリックスによるイオン源の汚染を防ぐために、水素ガスを非常に低い 0.13 mL/min の流量でイオン源に流します。全キャリブレーション範囲で優れた直線性にするために 9 mm のドロアアウトプレートを用いました。このアプリケーションノートでは機器の性能に焦点を当てているため、実際のサンプルの分析は行っていません。今後、フタレート分析における 8890 GC と 5977B GC/MSD システムの有効性と堅牢性を実証するために、実際のサンプルの分析を実施する予定です。

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. 2019

Printed in Japan, February 1, 2019

5994-0656JAJP

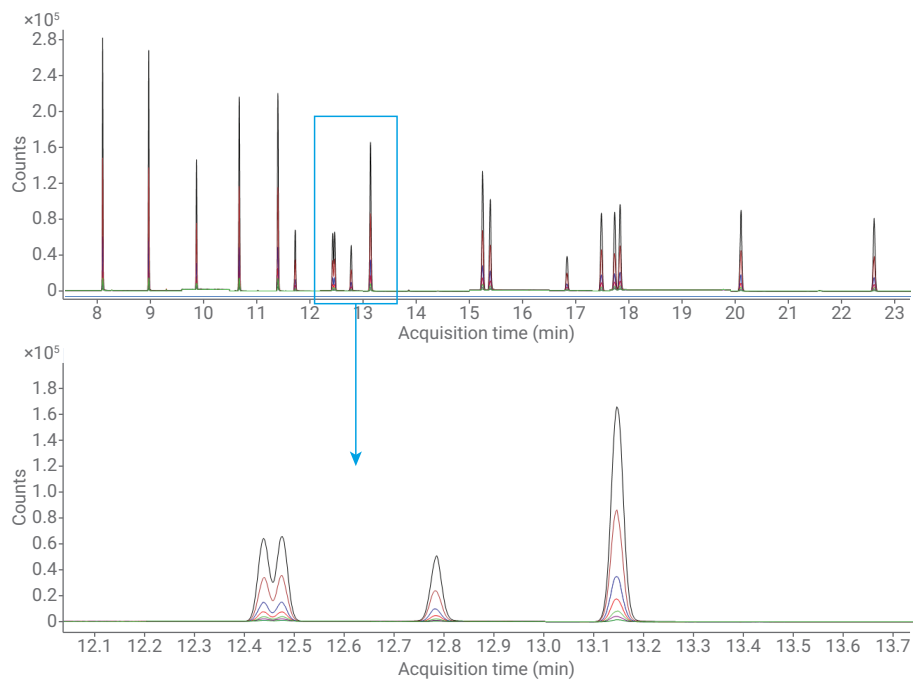


図 4.17 種類のフタレートの 10~1,000 ng/mL の SIM による TICC での直線性

結論

8890 GC と 5977B GC/MSD を組み合わせたシステムにより、19 種類のフタレートを優れた再現性、感度、精度で同定できます。このことは、機器の優れた RT/面積精度と低い MDL によって実証されました。17 種類のフタレートの直線回帰式は 10 ~ 1,000 ppb の範囲で $R^2 > 0.995$ でした。DINP と DIDP の直線回帰式は 100 ppb ~ 20 ppm の範囲で $R^2 > 0.998$ でした。これにより、8890 GC と 5977B GC/MSD を組み合わせたシステムの直線性が良好であることが実証されました。JetClean 測定とクリーニングモードを用いると、イオン源のマトリックスによる汚染を防ぎ、メソッド GB 5009.271-2016 の検出限界要件を満たすフタレートの高感度検出を実現できます。

参考文献

1. GB 5009.271-2016: Determination of Phthalates in food.
2. Feng Shuang; Hom Brian J. Sensitive and Reproducible Phthalate analysis using the Agilent 5977 series GC/MSD, *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-1810EN, 2013.