

# 改良型 QuEChERS 法と ガスクロマトグラフィートリプル四重極 質量分析装置 (GC/MS/MS) を使用した 野菜に含まれる 19 種類の フタル酸エステル類 (PAE) の測定

## アプリケーションノート

### 著者

Xin Sun

Shandong Agriculture University, Taian,  
271000, China

Wenwen Wang

Agilent Technologies, Wang Jing Bei Lu,  
Chao Yang District, Beijing, 100102,  
China

### 概要

野菜に残留する 19 種類のフタル酸エステル類 (PAE) の検出について、Agilent 7000B トリプル四重極 GC/MS/MS システムを使用した実用的なメソッドを確立しました。PAE は、超音波発生装置を使用し、アセトニトリル溶媒で野菜サンプルから抽出しました。抽出物に無水硫酸マグネシウムおよび塩化ナトリウムを加え、遠心分離し、C18 固相により精製しました。PAE は HP-5 MS UI カラムで分離し、トリプル四重極のマルチプルリアクションモニタリングモード (MRM モード) を使用して検出しました。野菜サンプルに 0.010 mg/kg および 0.10 mg/kg (n = 3) の混合標準をスパイクしました。回収率はほぼ 60~120 % の範囲で、相対標準偏差 (RSD) は 15 % 以下でした。19 種類の PAE について、0.010~0.50 mg/L で良好な直線性が得られ、すべての化合物の相関係数 ( $R^2$ ) は 0.995 以上でした。このメソッドは高い感度と良好な精度を示し、多成分残留分析の一般的な要件を満たしており、野菜中の PAE の測定に適用できます。



Agilent Technologies

## はじめに

フタル酸エステル類 (PAE) は製品の透明度、柔軟性、および耐久性を向上させることができます。PAE はプラスチックの主要な添加剤であり、ポリ塩化ビニル (PVC) 製品で主に使用されています。プラスチック製梱包材やビニールハウスが広く使用されているため、これらの化合物が環境中に大量に放出され、野菜やその他の食料品への PAE 汚染が起こります。PAE は発癌性やエストロゲン特性が疑われるため、人の曝露に対する大規模なモニタリングが実施されてきました。

PAE 分析の一般的な前処理メソッドは液-液抽出 (LLE) および固相抽出 (SPE) です [1]。LLE メソッドは手間が掛かるうえ、大量の有機溶媒を使用するため環境に配慮したメソッドではありません。SPE メソッドには複数の工程からなる処理が必要で、多くの時間が掛かります。このアプリケーションノートでは、代わりに改良型 QuEChERS メソッドを使用し、サンプルを抽出して精製しました。中国では、食料中の 16 種類のフタレート (フタル酸エステル類) を抽出する GB (中国国家標準) 分析法が制定されています [2]。今回は、GB メソッドの 15 種類の化合物と、さらに 4 種類の興味深い PAE (DPRP、DIDP、DINP、DAP) を含む 19 種類のフタレートを分析しました。この実験で使用した GC パラメータには、分析時間の短縮化、検出器の汚染を引き起こす可能性のある大きな分子量の化合物を検出器に導入させない、バックフラッシュ機能を使用した 28 分間の分離メソッドが含まれます [3]。Agilent 7000B トリプル四重極 GC/MS/MS システムが優れた感度と選択性を示し、確立されたメソッドはシンプルで、効率と信頼性が高いことがわかりました。

## 実験方法

### 試薬および薬品

アセトニトリル (ACN) およびヘキサンは HPLC グレードを準備しました。15 種類のフタレート標準は次のとおりです。ジメチルフタレート (DMP)、ジエチルフタレート (DEP)、ジイソブチルフタレート (DIBP)、ジブチルフタレート (DBP)、ビス (2-メトキシエチル) フタレート (DMEP)、ビス (4-メチル-2-ペンチル) フタレート (BMPP)、ビス (2-エトキシエチル) フタレート (DEEP)、ジペンチルフタレート (DPP)、ジヘキシルフタレート (DHXP)、ベンジルフタレート (BBP)、ビス (2-n-ブトキシエチル) フタレート (DBEP)、ジシクロヘキシルフタレート (DCHP)、ビス (2-エチルヘキシル) フタレート (DEHP)、ジ-n-オクチルフタレート (DNOP)、およびジニルフタレート (DNP) は o2si smart solutions 社 (米国) から、ビス-プロピルエステルフタレート (DPRP)、ジ-イソ-デシルフタレート (DIDP)、およびジイソノニルフタレート (DINP) は Dr. Ehrenstorfer 社 (ドイツ) から、ジアリルフタレート (DAP) は Sino-pharm Chemical Reagent 社 (中国) から購入しました。

## 機器および条件

### クロマトグラフィーパラメータ

GC システム	Agilent 7890A GC (構成を図 2 に示す)
カラム 1 およびカラム 2	Agilent HP-5 MS UI キャピラリカラム (15 m × 0.25 mm, 0.25 μm)
オープン温度プログラム	60 °C で 1.5 分間保持 20 °C/min で 60~220 °C、1 分間保持 5 °C/min で 220~280 °C、4 分間保持 (GB/T 21911-2008)
MMI 注入口注入モード	スプリットレス、1 分後にパージ
キャリアガス	ヘリウム
流量	カラム 1) 1.0 mL/min カラム 2) 1.20 mL/min
注入ポート温度	280 °C
注入量	1 μL
バックフラッシュ条件	
タイミング	ポストラン中の 5 分間
オープン温度	280 °C
補助 EPC 圧力	50 psi
注入口圧力	2 psi

### MS パラメータ

質量システム	Agilent 7000B トリプル四重極 GC/MS システム
溶媒ディレイ	5.0 分
イオン源	EI
イオン化電圧	70 eV
イオン源温度	280 °C
四重極温度	Q1 および Q2 = 150 °C
インタフェース温度	280 °C
コリジョンガス	窒素、1.50 mL/min
クエンチガス	ヘリウム、2.25 mL/min

MRM パラメータを表 1 に示します。ほとんどの化合物には、ターゲット化合物の存在を確認できる 3 つのトランジションが含まれます。

## 改良型 QuEChERS 法のアプローチ

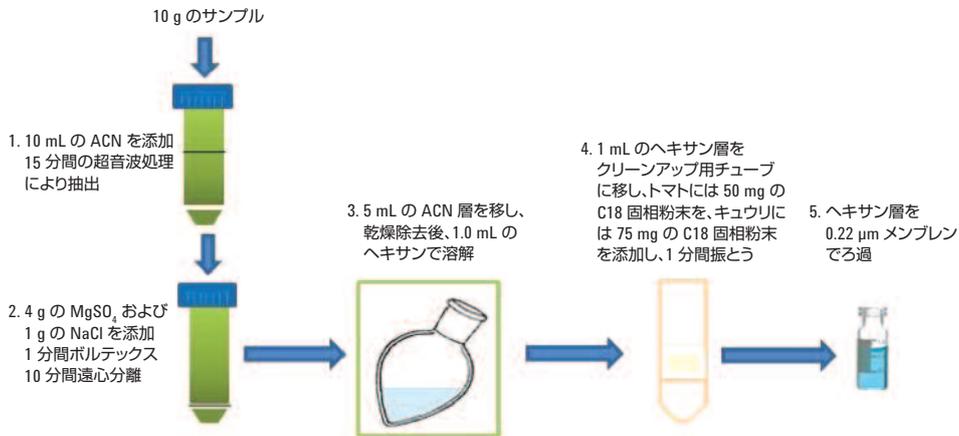


図 1. サンプル前処理のフローチャート

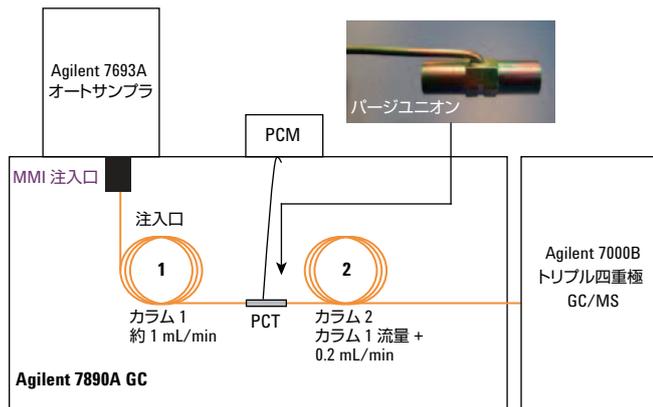


図 2. バックフラッシュ機能を搭載した GC/MS/MS 構成

## 結果と考察

### クロマトグラフィーによる分離の結果

GC 分析は 28 分間で完了し、19 種類のうち 17 の化合物についてベースライン分離が達成されました。2 種類の PAE (DIDP および DINP) は、GC/MS/MS の MRM 機能によって 2 つの共溶出する化合物をトランジションイオンにより分離することができました。この結果を図 3、図 4 に示します。図 4 に、19 種類の標準物質の各 PAE の MRM クロマトグラムを示します。表 1 にリテンションタイムの順序を示します。

### この機器構成の利点

このメソッドは、Agilent キャピラリー・フロー・テクノロジー (CFT) で構成された多成分 GC/MS/MS アナライザで、2 本の 15 m HP-5MS UI カラムを使用して堅牢で信頼性の高い GC カラムバックフラッシュが可能です。GC カラムをバックフラッシュ

すると、分析時間の短縮、カラム寿命の延長、化学的バックグラウンドの軽減、一貫したリテンションタイムとスペクトルの提供、MS イオン源のクリーンな状態の維持が可能になります。マルチモード注入口 (MMI) により、コールド、ホット、または溶媒ベントモードでサンプルに適した多様な注入方法を選択することができます。この構成は、ミッドカラムバックフラッシュを使用した定流量モードメソッドです。このメソッドは最高レベルの性能と短いサイクル時間を提供し、キャリアガスの消費量を削減します。

### 検量線と直線近似

検量線を 0.010~0.50 mg/L (6 点 : 0.010、0.020、0.050、0.10、0.20、0.50 mg/L) で作成しました。この結果を表 1 に示します。19 種類の PAE は、0.010~0.50 mg/L での直線性が良好で、すべての化合物の相関係数  $R^2$  は 0.995 を超えました。

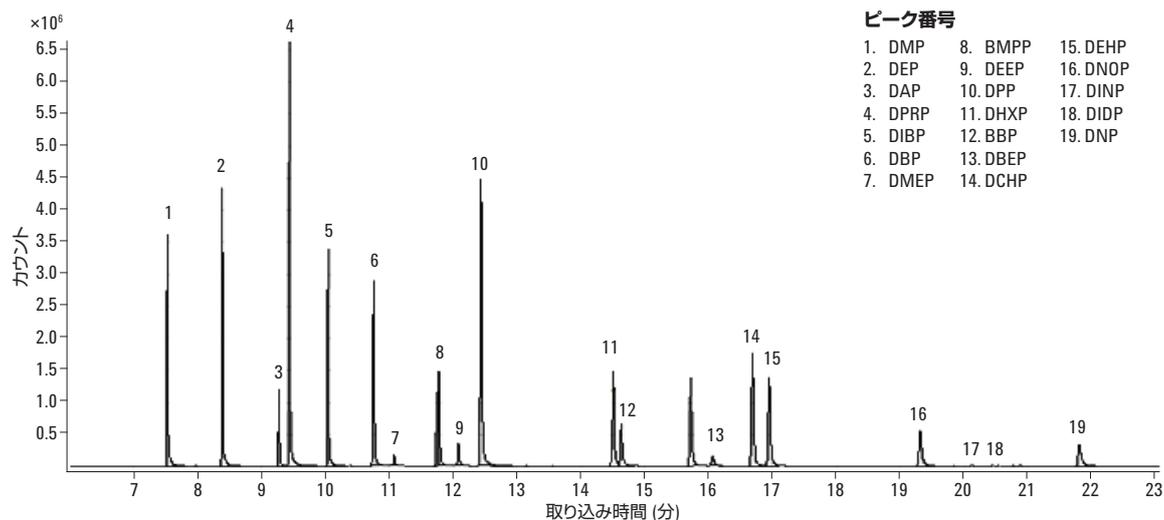


図 3. 19 種類の PAE が含まれる標準混合物を分析したときの MRM 全イオンクロマトグラム

表 1. 19 種類の PAE 化合物のリテンションタイム、MRM パラメータ、および R<sup>2</sup>

番号	CAS	化合物	RT	定量MRM	定性MRM	相関係数 (R <sup>2</sup> )
				CE/ev	CE/ev	
1	131-11-3	DMP	7.5	163 → 77(20)	163 → 135 (10) 163 → 92 (30)	0.999
2	84-66-2	DEP	8.4	149 → 65(20)	149 → 93 (15) 177 → 149 (5)	0.999
3	131-17-9	DAP	9.3	149 → 65(25)	149 → 121 (10) 149 → 93 (15)	0.997
4	131-16-8	DPRP	9.6	149 → 65(25)	149 → 93 (20) 191 → 149 (5)	0.999
5	84-69-5	DIBP	10.1	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 149 → 121 (15)	0.999
6	84-74-2	DBP	10.8	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 149 → 121 (15)	0.996
7	117-82-8	DMEP	11.1	104 → 76(15)	104 → 50 (30) 207 → 59 (5)	0.995
8	146-50-9	BMPP	11.8	149 → 65(25)	149 → 93 (20) 167 → 149 (5)	0.995
9	605-54-9	DEEP	12.2	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 193 → 149 (15)	0.998
10	131-18-0	DPP	12.5	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 149 → 121 (15)	0.995
11	84-75-3	DHXP	14.6	149 → 65(25)	149 → 93 (20) 149 → 121 (15)	0.995
12	85-68-7	BBP	14.7	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 91 → 65 (15)	0.995
13	117-83-9	DBEP	16.2	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 191 → 149 (15)	0.996
14	84-61-7	DCHP	16.8	149 → 65(25)	149 → 93 (20) 167 → 149 (5)	0.995
15	117-81-7	DEHP	17.0	149 → 65(25)	149 → 93 (15) 167 → 149 (5)	0.997
16	117-84-0	DNOP	19.4	149 → 65(25)	149 → 93 (20) 149 → 121 (15)	0.995
17	28553-12-0	DINP	19.0–22.0	293 → 149(10)	293 → 71 (10)	0.996
18	26761-40-0	DIDP	20.0–24.0	307 → 149(10)	307 → 71 (10)	0.995
19	84-76-4	DNP	21.9	149 → 65(25)	149 → 93 (20) 149 → 121 (15)	0.996

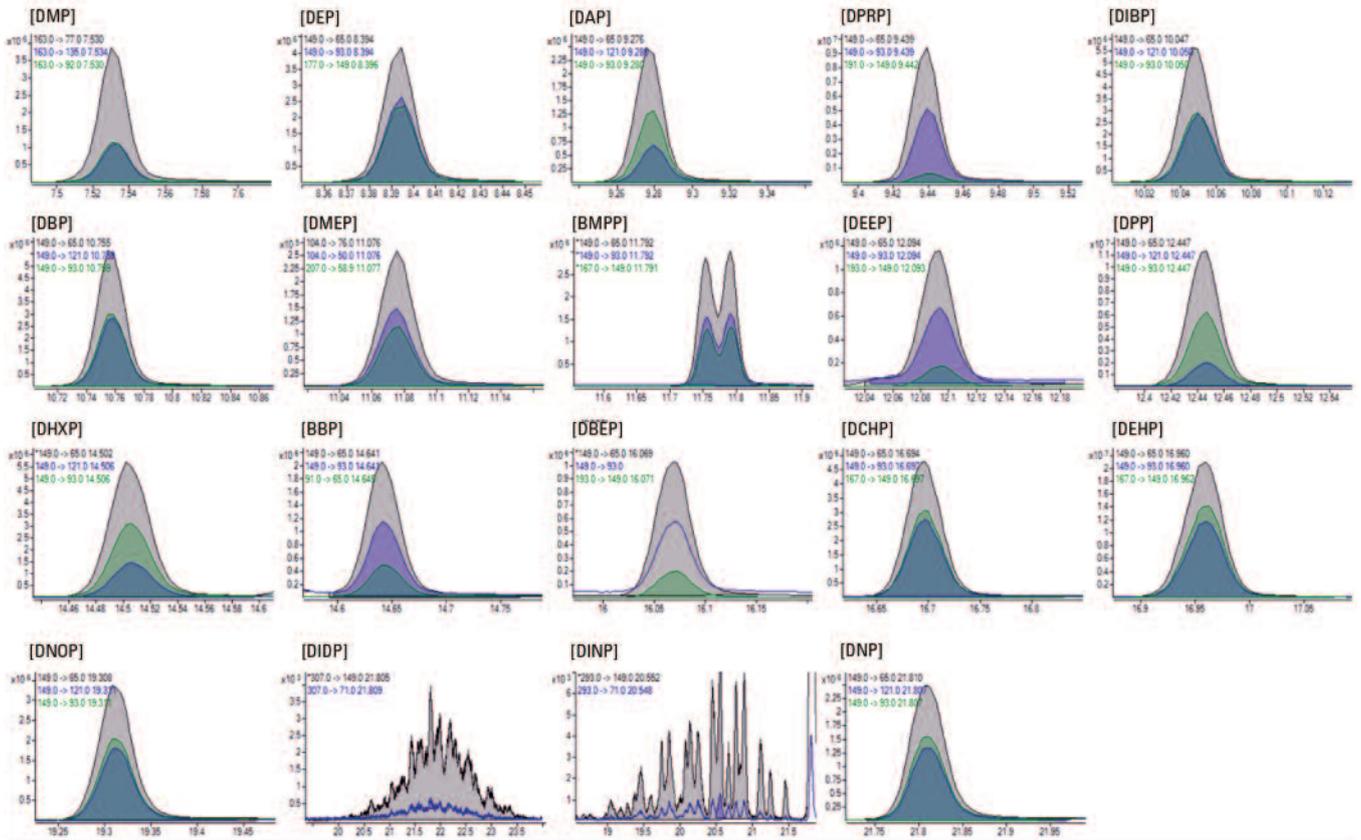


図 4.19 種類の標準物質の各 PAE の MRM クロマトグラム

## 回収率と再現性

ブランクマトリックスに 0.01 mg/kg および 0.1 mg/kg の各濃度で 3 回繰り返してスパイクし、メソッドの回収率と精度のバリデーションを実施しました。表 2 に示すように、回収率の値の多くは 60~120 % で、RSD は 15 % 以下となりました。

## PAE 検出の注意点

フタレートは環境内のどこにも存在する物質であり、容易に汚染が起こります。このため、前処理行程ではプラスチック容器ではなく、100 % ガラス製のもの (高温で焼いたもの) を使用する必要があります。溶媒の純度はクロマトグラフィグレード以上のものでなければなりません。最初に、溶媒の純度を GC/MS/MS で測定する必要があります。30 m DB-5MS UI (122-5532UI) または

30 m HP-5MS UI (19091S-433UI) カラム、個包装の高温緑色セブタム (p/n 5183-4759)、Agilent ウルトライナート不活性処理済み、シングルテーパープリットレス不活性ライナ (p/n 5190-2292) などの可塑剤を使用していない消耗品を使用します。バイアルセブタムにフォイルを使用し、複数回の注入を行わないことで、可塑剤による汚染を防ぐことができます。

## 野菜サンプルの分析

地元の市場から入手した 10 個のトマトサンプルを分析しました。サンプルから最大数百 ppb の濃度で DIBP、DBP、および DEHP が検出されました。DIBP、DBP、および DEHP の濃度範囲は、それぞれ 0.12~0.27 mg/kg、0.13~0.22 mg/kg、および 0.10~0.76 mg/kg でした。

表 2. トマトおよびキュウリに含まれる 19 種類の PAE の回収率および RSD

化合物	トマト (n = 3)				キュウリ (n = 3)			
	0.01 mg/kg		0.1 mg/kg		0.01 mg/kg		0.1 mg/kg	
	回収率 %	RSD %	回収率 %	RSD %	回収率 %	RSD %	回収率 %	RSD %
BBP	95.6	7.9	76.7	7.5	109.3	1.3	97.3	5.9
BMPP	98.3	8.5	89.7	5.4	104.4	4.5	96.3	6.3
DAP	92.2	4.1	68.2	12.5	103.4	6.4	97.7	3.7
DBEP	89.3	9.0	74.4	7.1	102.2	0.5	99.6	5.9
DBP	118.5	11.6	90.6	6.9	127.8	5.7	108.1	2.2
DCHP	91.0	12.4	81.3	6.7	110.2	0.7	98.4	6.5
DEEP	80.8	11.5	97.3	2.9	99.1	4.6	92.7	5.0
DEHP	105.0	10.3	63.9	3.8	63.3	5.7	91.9	6.3
DEP	62.3	8.3	92.0	13.6	106.6	6.3	91.3	8.2
DHXP	95.6	7.9	84.8	5.9	103.9	2.2	98.3	5.8
DIBP	128.3	10.5	89.5	8.2	126.5	13.3	112.9	6.0
DIDP	101.6	15.0	93.8	11.3	105.7	5.7	105.9	8.2
DINP	110.6	12.4	80.9	8.8	125.6	9.6	117.3	6.5
DMEP	68.4	9.1	101.7	13.0	79.4	6.8	76.2	8.1
DMP	89.2	6.9	66.7	8.4	89.3	7.9	76.2	14.9
DNOP	95.7	12.5	84.7	3.5	111.1	2.9	99.5	7.6
DNP	92.8	13.3	89.5	0.8	102.0	3.1	97.3	7.0
DPP	106.8	12.7	85.4	7.1	121.4	2.5	99.3	5.2
DPRP	94.9	6.8	72.3	12.2	101.2	6.1	96.7	3.5

## 結論

改良型 QuEChERS 法を GC/MS/MS MRM モニタリングと組み合わせ使用し、野菜に含まれる 19 種類の PAE を迅速に検出するための高感度のメソッドを開発し、実際のサンプル分析に適用しました。19 種類のうちの 3 種の PAE が、地元市場からランダムに入手した野菜から検出され、食品の汚染と人への曝露の恐れがあることが示されました。このメソッドは、野菜に含まれる 19 種類の PAE の分析についてシンプルで信頼性が高いことが証明されました。このメソッドは他の食料品の分析にも拡張することができます。食料品に含まれる PAE 濃度の詳細な調査も行う必要があります。

## 参考文献

1. H-Y. Shen, *et al.* "Simultaneous determination of seven phthalates and four parabens in cosmetic products using HPLC-DAD and GC-MS methods [J]" *J. Sep. Sci.*, **30**: 48–54, 2007.
2. GB/T 21911-2008 Determination of phthalate esters in food.
3. C-K. Meng, 「GC/MS/MS アナライザと農薬および環境汚染物質 MRM データベース」、アジレント技術資料、5990-9453JAJP

## 詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト [www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本資料に記載の情報、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. 2014

Published in Japan

August 4, 2014

5991-5025JAJP



**Agilent Technologies**