

# 哺乳瓶から溶出する ビスフェノール A の分析

## アプリケーションノート

### コンシューマプロダクツ

#### 著者

Syed Salman Lateef  
Agilent Technologies, Inc.  
Bangalore, India

#### 概要

ビスフェノール A は食品容器のプラスチック表面から溶出することがあり、血漿、尿、地下水などのさまざまなマトリックスで検出されてきました。ビスフェノール A は、エストロゲンなどの生体ホルモンと類似した作用を持つ内分泌攪乱物質であり、健康にマイナスの影響を与えることがあります。このアプリケーションノートでは、哺乳瓶から抽出されたビスフェノール A と、構造的に類似したビスフェノール F を定量するメソッドについて説明します。このメソッドは、Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラムを使用した Agilent 1260 Infinity LC システム上で開発したものです。メソッドの部分的バリデーションを実施し、面積とリテンションタイムの直線性、堅牢性、精度を確認しました。Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用して希釈系列を自動的に生成し、分析時間を短縮しました。ビスフェノール A の定量下限 (LOQ) が 1.06 ng/mL であることがわかりました。サンプル回収率の実験では、ビスフェノール A について 80% の回収率が得られました。このメソッドを Agilent 1290 Infinity LC システムを使用した超高速液体クロマトグラフィー (UHPLC) メソッドに変換しました。UHPLC メソッドは、実験条件は同じですが、ピークがよりシャープで高くなり、分離能と S/N 比が向上しました。いずれのメソッドも、哺乳瓶など食品容器の品質管理におけるビスフェノール A の定量に適用することができます。



**Agilent Technologies**

## はじめに

ビスフェノール A (BPA) は、ポリカーボネートプラスチックやエポキシ樹脂の製造に使用されるモノマーです。熱や pH の変化など、さまざまな環境条件の下で微量の BPA がこれらのポリカーボネートプラスチックの表面から溶け出し、これを最終的に人が摂取することがあります。BPA は、尿、地下水、血漿など各種のマトリックスで検出されています。その値を超えると毒性の影響が現れるしきい値があるという仮定に基づき、米国環境保護庁 (US EPA) は、BPA の参照用量 (RfD) として、体重 1 kg あたり 1 日に 50 µg という量を設定しました<sup>1</sup>。ポリカーボネートプラスチック製の哺乳瓶は、子どもにとって潜在的な危険性があります。このアプリケーションノートでは、構造的に類似した市販の化合物、ビスフェノール F (BPF) (図 1) を BPA とともに使用して分離効率を測定しました。

Ballesteros-Gomez 他は、BPA の分離、同定、定量に使用する各種の分析メソッドを確認しました<sup>2</sup>。また、ASTM 規格テストメソッド D 7574-09 は、環境水からビスフェノール A を抽出するための SPE に基づくオフラインメソッドを説明したものです<sup>3</sup>。BPA は蛍光化合物であるため、蛍光検出器 (FLD) が哺乳瓶中の BPA 濃度の検出に高い感度を示します。このアプリケーションノートでは、(U)HPLC/FLD 検出による SPE ベースのオフライン抽出手順を使用して BPA と BPF を同時に定量するメソッドについて説明します。

## 実験方法

### 機器およびソフトウェア

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

- Agilent 1260 Infinity バイナリポンプ (G1312B)
- Agilent 1260 Infinity オートサンプラおよびサーモスタット (G1367E、G1330B)
- Agilent 1260 Infinity カラムコンパートメント (TCC) (G1316C)
- 8 µL フローセル付き Agilent 1260 Infinity 蛍光検出器 (G1312B)

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

- Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity オートサンプラおよびサーモスタット (G4226A、G1330B)
- Agilent 1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- 8 µL フローセル付き Agilent 1260 Infinity 蛍光検出器 (G1312B)

ソフトウェア :

- Agilent ChemStation B.04.02

サンプル前処理 :

- Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチ

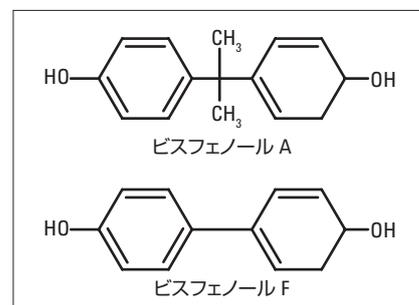


図 1  
ビスフェノール A およびビスフェノール F の分子構造

## 試薬および材料

使用したすべての薬品と溶媒は HPLC グレードのもので、純水は、Milli Q 水精製システム (Millipore Q-POD Element、米国) から得られたものを使用しました。スーパーグラジエントグレードのアセトニトリルとメタノールは Lab-Scan (タイ、バンコク) から、リン酸二水素カリウムは Fluka (ドイツ) から購入しました。ビスフェノール A とビスフェノール F の標準サンプルは Sigma-Aldrich (インド) から購入しました。米国製の BPA を含まない哺乳瓶と、3 種類の異なるブランドの国産ポリカーボネート製哺乳瓶を購入しました。

## クロマトグラフィーパラメータ

Agilent 1260 および Agilent 1290 Infinity LC システムを使用した逆相液体クロマトグラフィーの分析条件を表 1 に示します。

パラメータ	Agilent 1260 Infinity LC システム	Agilent 1290 Infinity LC システム
カラム:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 4.6 x 100 mm、 5 µm (p/n 959996 902)	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 4.6 x 100 mm、 1.8 µm (p/n 959964 902)
TCC 温度:	40 °C	
FLD:	励起: 230、発光: 316	
FLD 取り込みレート	9.26 Hz	
ゲイン:	15	
サンプルサーモスタット:	4 °C	
移動相 A:	10 mM リン酸二水素カリウム水溶液	
移動相 B:	100 % アセトニトリル	
グラジエント:	時間 (分)      %B	
	0                    5	
	2                    5	
	2.1                 35	
	12.5                35	
	12.6                70	
	17                   70	
	18.1                5	
	23                   5	
流量:	0.9 mL/min	
注入量:	20 µL。移動相 A を使用し、フラッシュポートで 5 秒間ニードル洗浄	

表 1  
Agilent 1260 Infinity LC および Agilent 1290 Infinity LC システムで使用する分析条件

## 標準の前処理

BPA と BPF を正確に計量して 100 % メタノールに個別に溶解し、それぞれ約 300 µg/mL の原液を生成しました。未使用時は 4 °C で保管しました。

5 % アセトニトリル、95 % 10 mM リン酸二水素カリウム水溶液の希釈用緩衝液により原液を希釈して、BPA および BPF の 400 ng/mL 溶液を前処理しました。表 2 に示す直線性レベルは、400 ng/mL 溶液を順次希釈することで得られたものです。Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用し、段階希釈によって直線性レベルを作成しました。最初のシーケンスでは、400 µL の希釈溶液をすべてのバイアルに加えしました。第 2 のシーケンスでは、400 ng/mL の溶液から 300 µL を最初のシーケンスのレベル 7 のバイアルに加え、15 秒間攪拌しました。直前のレベルから 300 µL を取り出し、次のレベルのバイアルに加えて段階希釈を行いました。2 つのシーケンスを実行する代わりに、これらのステップを 1 つのメソッドにプログラミングし、1 回のシーケンスとして実行することもできます。Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチの設定で使用したシリンジパラメータを表 3 に示します。アジレントアプリケーションノート<sup>5</sup>では、7696A サンプル前処理ワークベンチの設定について詳細に説明しています<sup>4</sup>。

直線性レベル	ビスフェノール A (ng/mL)	ビスフェノール F (ng/mL)
LOD	0.195105	0.195105
1	1.06224	1.06224
2	2.478559	2.478559
3	5.783305	5.783305
4	13.49438	13.49438
5	31.48688	31.48688
6	73.46939	73.46939
7	171.4286	171.4286

表 2  
ビスフェノール A およびビスフェノール F の希釈表

## サンプル前処理

図 2 の説明に従って、ポリカーボネート製哺乳瓶から BPA を抽出しました。SPE アダプタ (p/n 12131001) と外径 3 mm のチューブ (p/n 5062-2483) を使用して、サンプルを Agilent Bond Elut Plexa SPE カラム、200 mg、6 mL (p/n 12109206) にロードしました。Agilent 20 ポート真空抽出マニホールド (p/n 12234104) を SPE の設定に使用しました。ASTM メソッドで説明されているサンプルの取り扱いに関する注意事項に従いました<sup>3</sup>。最後のステップ (図 2) で再溶解した溶液をサンプル分析に直接使用しました。

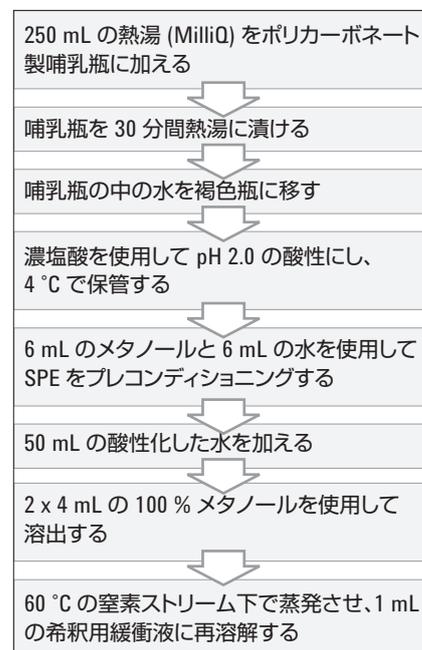


図 2  
哺乳瓶からの BPA の抽出と SPE を使用したサンプル前処理

	溶媒 事前洗浄 1	分注洗浄	分注ポンプ	分注設定
ポンプ数または洗浄回数	1	1	3	
洗浄ボリューム (µL)	50	50	20	
吸引速度 (µL/min)	1250	1250	1250	1250
分注速度 (µL/min)	2500	2500	2500	2500
ニードル深さオフセット (mm)	-2.0	-2.0	-2.0	-2.0
粘度遅延	0	0	0	0
タレット溶媒	A			
エアギャップ (% シリンジ体積)	0			0

表 3  
Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチに使用する 500 µL シリンジパラメータ

## 手順

直線範囲を得る前に、再溶解した哺乳瓶の抽出物を注入し、BPA のおよその濃度を測定しました。移動相 A の溶液 20  $\mu\text{L}$  をブランクとして注入し、次に各直線性レベルを 6 回繰り返しました。各レベルの面積およびリテンションタイム (RT) 情報を使用して、相対標準偏差 (RSD) の値を計算しました。直線範囲で各直線性レベルの平均面積を濃度に対してプロットし、検量線を作成しました。低い方の直線性レベルの注入から BPA および BPF の検出下限 (LOD) と定量下限 (LOQ) を求めました。

メソッドの堅牢性を評価するために、次の 6 つの重要なメソッドパラメータを評価しました。

- 流量  $\pm 2\%$
- カラム温度  $\pm 2.5\%$
- 注入量  $\pm 5\%$
- 励起および発光波長  $\pm 3\%$
- ステップグラジエント  $\pm 10\%$
- 緩衝液濃度  $\pm 10\%$

堅牢性の各パラメータで、標準濃度 30 ng/mL の BPA および BPF 溶液を 7 回繰り返して注入しました。

再現性の実験を行うために、図 2 の説明に従って、BPA を含まない哺乳瓶からサンプルを抽出しました。このサンプル 50 mL に対し、少量または大量の BPA および BPF をスパイクしました。スパイクした両方のサンプルを SPE の対象としました。検量線を使用して、得られたサンプルの濃度を確認しました。理論上の濃度と実験値を比較して、回収率の値を取得しました。

最後に、3 つの異なるブランドの哺乳瓶を分析し、標準の HPLC メソッドを使用して、2 種類のビスフェノールの溶出濃度を測定しました。

次に、このメソッドを Agilent 1290 Infinity LC システムに変換し、同じ実験条件を使用して 1.8  $\mu\text{m}$  カラムで分析し、このメソッドの分離能と感度をテストしました。このメソッドでは、各標準の LOD、LOQ、および直線性とメソッドの精度を面積および RT の RSD により評価しました。

## 結果と考察

### 分離および検出

メソッド開発時に酸性および塩基性移動相を使用して、BPA と BPF の分離を C18 カラムでテストしました。メソッドを完成させる前に、哺乳瓶から抽出した水サンプルもテストしました。

その後の実験には Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラムを使用しました。低温 (35  $^{\circ}\text{C}$ ) の TCC によって溶離時間の近い不純物から BPA を最適に分離することができましたが、マトリックスサンプルの分析時には 40  $^{\circ}\text{C}$  の方が適切であることがわかりました。リニアグラジエントによって 2 つのビスフェノールが分離されましたが、メソッド堅牢性の予備実験では、グラジエントを変化させると大きな変動が発生しました。この結果ステップグラジエントメソッドを採用し、このメソッドによって比較的堅牢な結果が得られました。ASTM メソッドでは、低温でのビスフェノールの保管が推奨されているため、分析中はオートサンプラを 4  $^{\circ}\text{C}$  に設定しました。図 3 は、最終的なメソッドを使用して 2 つのビスフェノールを分離したクロマトグラムを示しています。

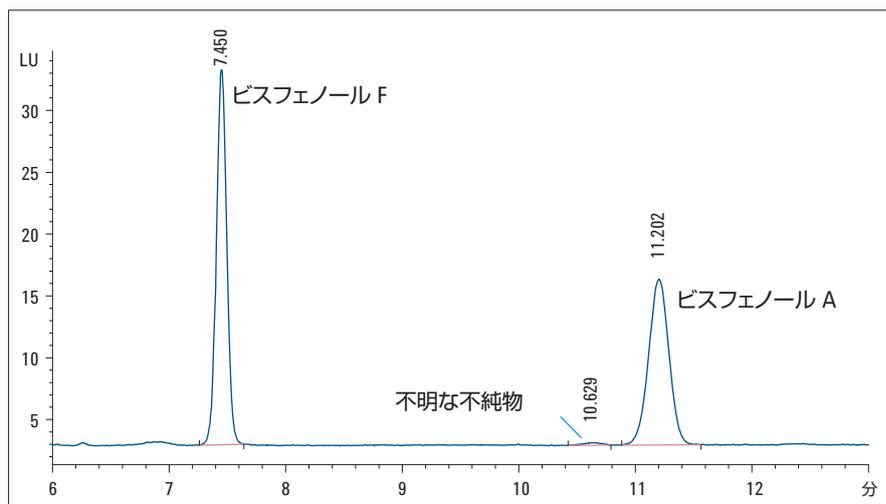


図 3  
Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラムを使用したビスフェノール F とビスフェノール A の 30 ng/mL 溶液の分離。230 nm (励起) と 316 nm (発光) の FLD 設定を使用してクロマトグラムを収集しました

## 検出下限 (LOD) および 定量下限 (LOQ)

S/N 比が 3 を超える対象化合物濃度を LOD、S/N 比が 10 を超える対象化合物濃度を LOQ と見なしました。ノイズの計算には peak-to-peak メソッドを使用しました。図 4 に、LOQ レベルでの BPA のクロマトグラムをブランク (移動相) の注入と重ね合わせて示します。BPA では、LOD は S/N = 4.3 で 0.19 ng/mL、LOQ は S/N = 15.1 で 1.06 ng/mL でした。

## 直線性

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用して、直線範囲を持つ検量線 (表 2 を参照) を生成しました。ワークベンチはサンプル処理を自動化し、一貫性のある結果を提供します。プログラムを再度実行するだけで、異なる直線範囲を生成することができます。LOQ レベルの BPA から開始して直線性レベルを確立しました。LOD および LOQ の値を、直線性の結果とともに表 4 に示します。注入量を増やすことで LOD および LOQ の値をさらに下げることができますが、このアプリケーションでは、哺乳瓶から得られた値が直線範囲内にあることがわかってきたため、この操作は不要でした。

## リテンションタイム (RT) と面積の 精度

面積精度は直線性レベルの RSD (%) として測定しました。レベル 1 (L1) で、BPA と BPF についてそれぞれ 5.6 % および 7.2 % の最大 RSD 値が得られました。同様に、RT の精度の計算で、BPA と BPF についてわずか 0.14 % と 0.11 % の最大 RSD 値が得られました。面積の RSD 値のグラフを図 5 に示します。

サンプル 番号	名称	LOD ng/mL	S/N	LOQ ng/mL	S/N	直線範囲	R <sup>2</sup> 値	レベル数
1	ビスフェノール F	0.19	5.1	0.46	12.4	1.06-171.43	0.99999	7
2	ビスフェノール A	0.19	4.3	1.06	15.1	1.06-171.43	0.99998	7

表 4

BPA および BPF の LOD、LOQ、および直線性。サンプルは、Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用して前処理しました。ポリカーボネート製哺乳瓶で見られる BPA のレベルは直線範囲内に収まっていた

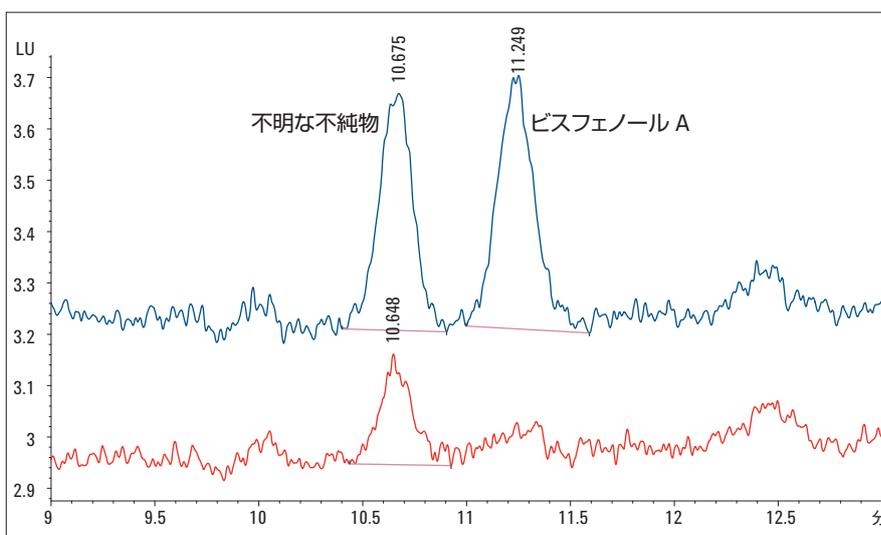


図 4

ビスフェノール A の LOQ レベル、1.06 ng/mL (21 pg オンカラム) 溶液を 20  $\mu$ L 注入したものとブランク注入との重ね表示。この濃度で得られた S/N 比は 15 でした

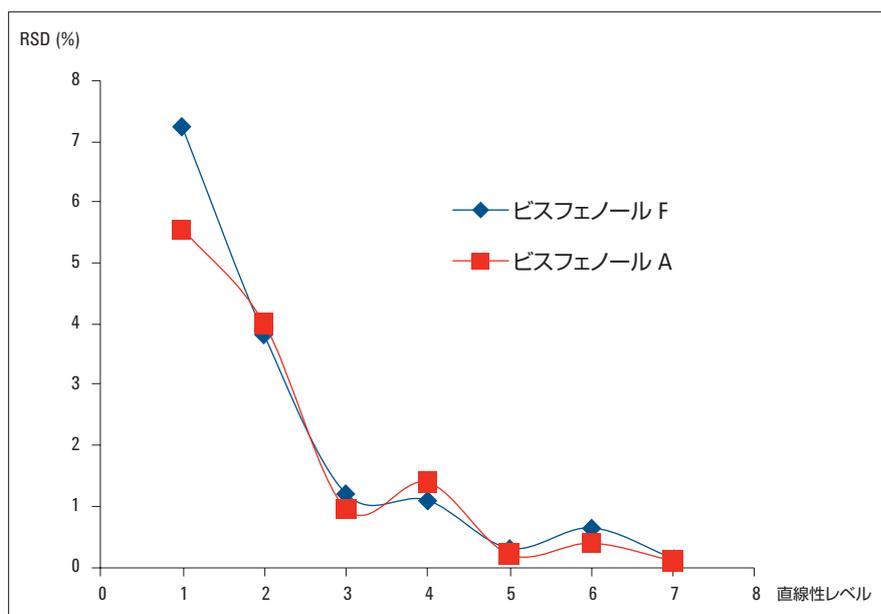


図 5

BPA および BPF の各濃度レベルにおける 6 回の繰り返しでの RSD (%) として測定された面積精度

## 堅牢性

メソッドの堅牢性をテストするために、30 ng/mL の BPA と BPF が含まれる標準溶液を使用しました。6 つの重要なメソッドパラメータ (流量、カラム温度、注入量、励起および発光波長、ステップグラジエント、緩衝液濃度) を個別に変化させ、7 回繰り返し注入してデータを収集しました。最後の 6 回の繰り返しで得られた化合物のピーク面積を分析用に比較しました。面積とリテンションタイムの許容偏差をそれぞれ  $\pm 5\%$  と  $\pm 3\%$  に設定しました。

堅牢性テストの結果を表 5 にまとめます。赤い数値は、結果が許容偏差を超えていることを示します。流量が  $+2\%$  変化した結果、2 つのビスフェノールの面積が減少しました。特に、ビスフェノール A では、カラム温度が  $2.5\%$  変化することによってピーク面積にマイナスの偏差が発生することがわかりました。BPA と不純物との分離を比較すると (図 3、RT 10.6 を参照)、温度の上昇によって結果の品質が下がり、温度が  $35\text{ }^\circ\text{C}$  まで低下すると結果が向上することがわかりました。

サンプル分析には  $40\text{ }^\circ\text{C}$  の方が適切であることがわかりました。堅牢性の結果は、分析中にカラム温度を維持することの重要性を示しています。FLD 励起波長を  $230\text{ nm}$  に設定し、発光波長を  $316\text{ nm}$  に設定すると最大のピーク面積が得られるため、この設定が理想的であることがわかりました。3 nm の変動があっても、面積パーセンテージの偏差は許容限界を超えないため、 $316\text{ nm}$  の発光波長の設定は堅牢です。ただし、励起波長は制御する必要があります。10% の偏差によって BPA と BPF の両方のピーク面積が減少するため、緩衝液濃度の変化も

重要です。堅牢性の結果は、このメソッドが通常の使用では高い信頼性を提供し、メソッドパラメータを意図的に変更しても、かなりのレベルまで性能が影響を受けないことを示しています。ただし、一部のパラメータは重要であり、慎重に制御する必要があります。

## サンプルマトリックスからの回収率

BPA を含まない哺乳瓶をブランクマトリックスとして使用しました。スパイク分析を 2 回繰り返し、BPA と BPF の回収率をテストしました。低標準スパイクには、BPA を含まない哺乳瓶の 50 mL 水抽出液にそれぞれスパイクした BPA (30 ng) と BPF (30 ng) が含まれていました。別の高標準スパイクは、BPA を含まない哺乳瓶の 50 mL 水抽出液にそれぞれスパイクした BPA (50 ng) と BPF (50 ng) で構成されていました。対象化合物は、前述のように水サンプルから抽出し

ました。水溶液のリニア曲線 (「直線性」の項を参照) を使用して、面積を濃度の値に変換しました。低および高濃度値を理論値と比較しました。回収率の実験結果を表 6 に示します。BPA は、高濃度値で 80% の回収率を示しました。80% は、ASTM メソッドで報告される値よりも高い値です。このメソッドでは、平均的な単一のラボで 70% の回収率が得られます。

化合物名	低濃度での回収率 (%)	高濃度での回収率 (%)
ビスフェノール F	70.2	75.9
	70.1	74.1
ビスフェノール A	76.9	79.6
	75.1	81.1

表 6  
2 回繰り返し実行したスパイク分析の回収率の結果

パラメータ	変化	BPF		BPA と不明物質の分離		BPA	
		% 面積	% RT	% 面積	% RT	% 面積	% RT
流量: 0.9 mL/min $\pm 2\%$	高: 0.92 mL/min	-4.6	-1.2	1.9	-5.1	-1.2	
	低: 0.88 mL/min	0.1	1.9	1.9	-1.9	2.2	
TCC: $40\text{ }^\circ\text{C} \pm 2.5\%$	高: $41\text{ }^\circ\text{C}$	-4.2	-0.4	1.7	-5.0	-0.6	
	低: $39\text{ }^\circ\text{C}$	-3.1	0.9	2.1	-10.0	1.3	
インジェクタ: $20\text{ }\mu\text{L} \pm 5\%$	高: $21\text{ }\mu\text{L}$	2.6	0.2	1.9	0.0	0.2	
	低: $19\text{ }\mu\text{L}$	-7.6	0.1	1.9	-9.8	0.1	
波長: 230~316 $\pm 3\text{ nm}$	233~316	-2.2	0.0	1.9	-5.7	0.0	
	227~316	-7.0	0.2	1.9	-4.6	0.2	
	230~319	-3.2	0.1	1.9	-4.5	0.1	
	230~313	-3.5	0.1	1.9	-3.0	0.1	
ステップグラジエント 開始ポイント: $2\text{ 分} \pm 10\%$	高: 2.2 分	-3.8	2.9	1.9	-4.1	2.0	
	低: 1.8 分	-3.3	-2.4	1.9	-3.8	-1.5	
緩衝液濃度: $10\text{ mM} \pm 10\%$	高: 11 mM	-4.2	0.2	1.9	-6.0	0.2	
	低: 9 mM	-5.9	0.1	1.8	-9.8	0.1	

表 5  
濃度 30 ng/mL における堅牢性テストメソッドの結果と標準メソッドとの比較。表の赤字の値は、偏差が面積の許容限界 5% とリテンションタイムの許容限界 3% を超えていることを示します

## サンプル分析

抽出手順と開発した分析メソッドを使用して哺乳瓶の BPA および BPF の含有量を測定しました。ブランド 1、ブランド 2、およびブランド 3 のラベルが付いた哺乳瓶を 2 回繰り返して分析しました。分析結果を、サンプル分析の実施前に作成した検量線と比較しました。SPE の対象となるブランクの水サンプルでは BPA は見られず、この実験で使用したプラスチックからは BPA が溶け出ていないことを示しています<sup>3</sup>。3 つのブランドの哺乳瓶からは異なる量の BPA が検出されました (図 6A を参照)。標準からの BPA の発光スペクトルをサンプルのスペクトルと重ねて示しました。良好な重なり合いが見られ、BPA の存在が確認されました (図 6B を参照)。異なるブランドの分析により、濃度の高いものでは 4 ng/mL が、低いものでは 0.5 ng/mL が検出されました (表 7 を参照)。これらの値は、Sun 他により以前に観察された値 (0.6 ng/mL) と一致しています<sup>5</sup>。体重 10 kg

の乳児がブランド 2 の哺乳瓶で 250 mL を摂取すると、この乳児は 1 日に体重 1 kg あたり 0.1  $\mu\text{g}$  の BPA を取り込むこととなります。これは、EPA により設定された 1 日に体重 1 kg あたり 50  $\mu\text{g}$  という参照用量よりも低い値ですが、一部の実験では懸念が示されています<sup>6</sup>。また、結果から、どの哺乳瓶からも BPF が検出されなかったこともわかりました。

化合物名	BPF (ng/mL)	BPA (ng/mL)
ブランド 1	0	0.76
	0	0.52
ブランド 2	0	4.26
	0	4.46
ブランド 3	0	2.08
	0	2.58

表 7  
異なるブランドの哺乳瓶から 250 mL の水に抽出された BPA および BPF の濃度

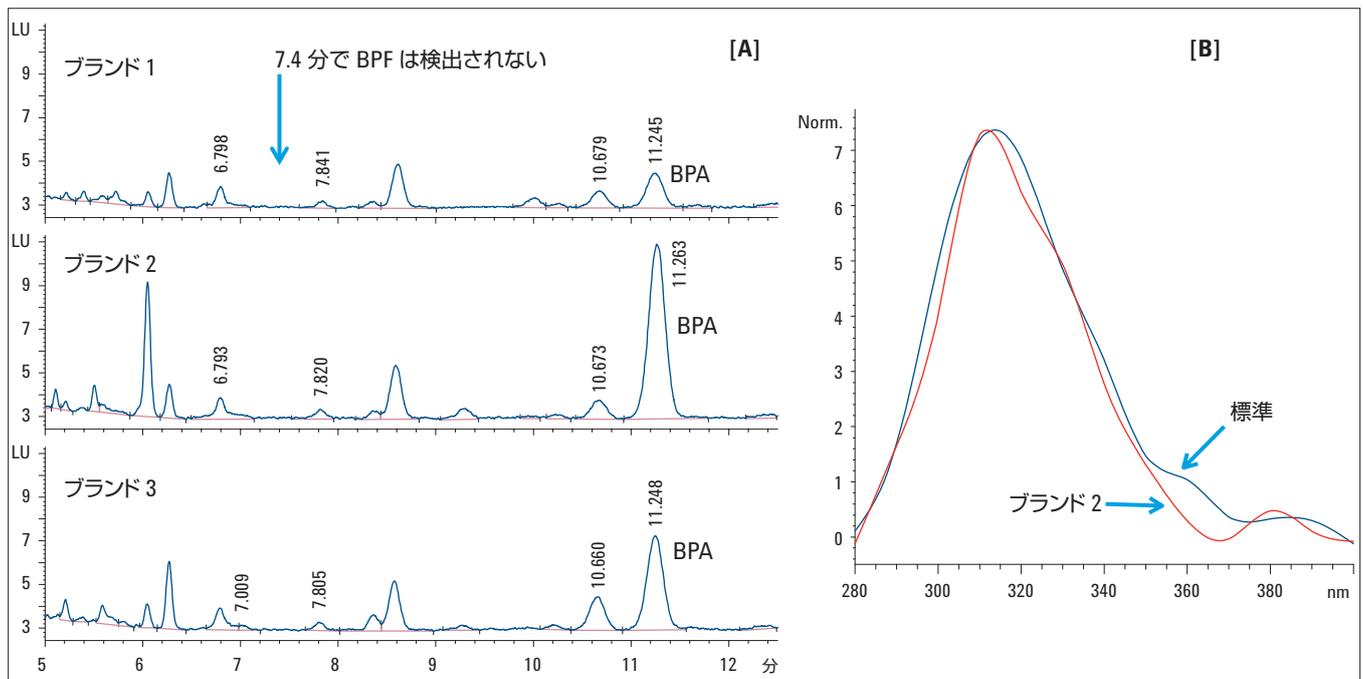


図 6  
[A] 3 つの異なる哺乳瓶から得られた BPA および BPF の分析クロマトグラムの重ね書き表示。[B] 標準とブランド 2 のサンプルから得られた BPA の発光スペクトルの重ね書き表示

## UHPLC メソッド

分析時間を図 7 に示したものと同一に維持したまま、HPLC メソッドを Agilent 1290 Infinity LC システムの UHPLC メソッドに変換しました。この変換は、分離能と感度の効果を調べるために行いました。UHPLC メソッドでは、同じ移動相、グラジエント、検出器設定を使用しました。カラムのサイズは同一のままですが、UHPLC メソッドでは粒子サイズを 5 μm から 1.8 μm に下げました。UHPLC メソッドではピークが約 1.2 分早く溶出しました。これは、Agilent 1290 Infinity LC システムの方がディレイボリウムが小さいからです。また UHPLC メソッドの方が HPLC メソッドよりもピークがシャープで、分離能が優れていました。最も低い直線性レベル L1 と最も高い直線性レベル L7 におけるピーク面積、ピーク高さ、ピーク幅、分離能、S/N などのピーク特性を表 8 で比較しました。この結果は、BPA の分離能が HPLC メソッドの 1.9 から UHPLC メソッドの 2.5 に向上したことを示しています。S/N 比もほぼ 2 倍になり、その結果感度も向上したため、LOQ と LOD のレベルを再定義することができました。

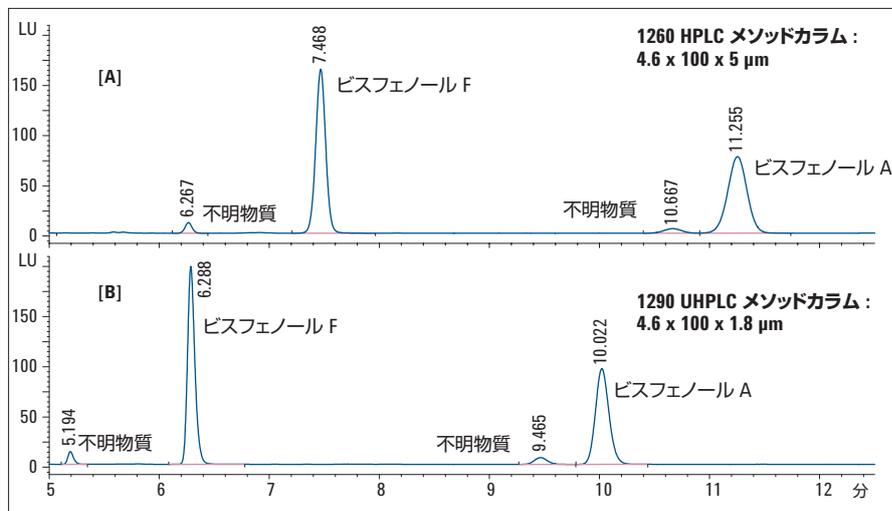


図 7 Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 4.6 x 100 カラムで BPA および BPF のレベル 7 の標準を分離する HPLC メソッド [A] および UHPLC メソッド [B] のクロマトグラムの重ね書き表示。HPLC メソッドでは 5 μm の粒子サイズを、UHPLC メソッドでは 1.8 μm を使用しました

化合物名 (レベル)	HPLC メソッド					UHPLC メソッド				
	ピーク面積	ピーク半値幅	ピーク高さ	分離能	S/N	ピーク面積	ピーク半値幅	ピーク高さ	分離能	S/N
BPF (L7)	1037.0	0.10	163.7	-	3683.0	930.5	0.07	199.6	-	6784.8
BPA (L7)	934.1	0.19	76.3	1.9	1715.7	825.8	0.13	96.4	2.5	3276.7
BPF (L1)	7.5	0.10	1.1	-	27.4	7.2	0.07	1.4	-	42.6
BPA (L1)	8.1	0.20	0.6	1.8	15.1	9.4	0.14	1.0	2.5	31.6

表 8 最初の直線性レベルと最後の直線性レベルの HPLC および UHPLC メソッドのピーク面積、ピーク半値幅、ピーク高さ、分離能、および S/N 比の比較。UHPLC メソッドの方が HPLC メソッドよりも感度と分離能が優れています

同じキャリブレーションレベル (表 2 を参照) を使用したときの BPA と BPF のキャリブレーションが直線であることがわかりました (BPF の  $R^2$ : 0.99991、BPA の  $R^2$ : 0.99993)。面積および RT の RSD (%) をすべての濃度レベルについて計算しました。この結果は、面積の偏差の RSD (%) が UHPLC メソッドで比較的低いことを示しています。図 8 に示すように、BPA のレベル 1 で 3.0 % の値が見られました。BPA と BPF のいずれについても、RT の最大 RSD は 0.1 % 未満でした。

## 結論

Agilent 1260 Infinity LC システムと Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 カラムを使用して、ビスフェノール A とビスフェノール F を分離し、定量しました。キャリブレーション標準は、Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用して前処理しました。メソッドを開発し、部分的バリデーションを実施しました。このメソッドは、さまざまな哺乳瓶から 80 % の回収率値でビスフェノール A とビスフェノール F を定量します。このメソッドは、哺乳瓶の品質管理を目的とした BPA および BPF レベルの測定に適用することができます。Agilent 1290 Infinity LC システムへのメソッド変換は、検出器とメソッド条件を同一に維持することで効果的に行われました。HPLC と UHPLC のいずれのメソッドも直線的で、高精度の結果が示されました。ただし、UHPLC メソッドの方が HPLC メソッドよりも優れた分離能と S/N 比、またシャープなピーク幅と高いピーク高さが得られました。

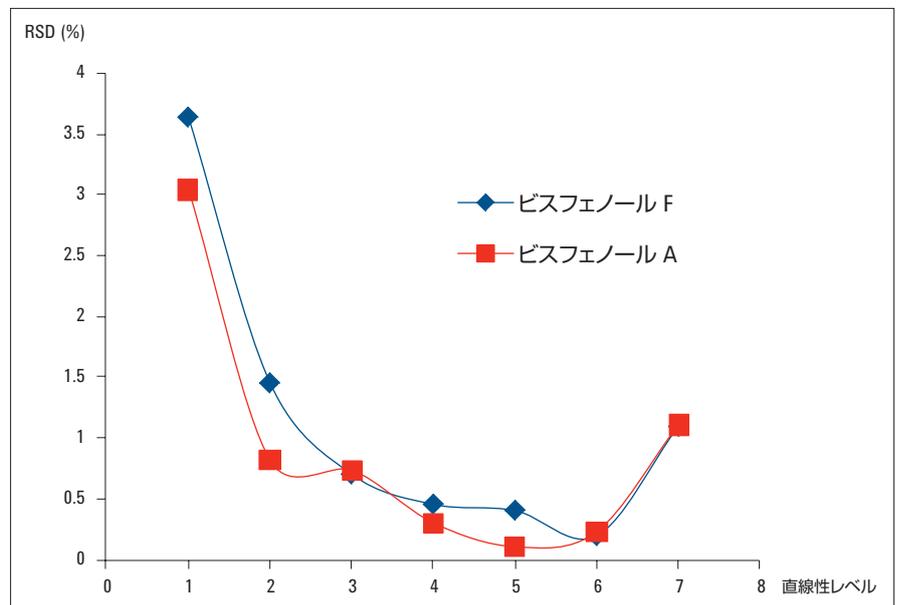


図 8  
UHPLC によって BPF および BPA の RSD (%) として測定された面積精度。各濃度レベルで測定を 6 回繰り返ししました

## 参考文献

1. U.S. Environmental Protection Agency (U.S. EPA), Bisphenol A. (CASRN 80-05-7), <http://www.epa.gov/iris/subst/0356.htm>
2. Ballesteros-Gomez; S. Rubio; D.Perez-Bendito, "Analytical methods for the determination of bisphenol A in food," *J. Chrom A*, 1216: 449-469, **2009**.
3. ASTM method," Standard Test Method for Determination of Bisphenol A in Environmental Waters by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry," D7574-09.
4. W.D. Snyder," Agilent 7696A Sample Prep WorkBench: How to automate Preparation of a Sample Set by Serial Dilution for Measurement of Flame Ionization Detector Performance," Agilent Application note, Publication Number, 5990-6850EN, **2010**.
5. Y. Sun, M. Wada, O. Al-Dirbashi, N. Kuroda, H. Nakazawa, K. Nakashima, "High-Performance Liquid Chromatography with Peroxyoxalate Chemluminescence Detection of Bisphenol A Migrated from Polycarbonate baby bottles using 4-(4,5-diphenyl-1H-imidazol-2-yl) benzoyl chloride as a label," *J.Chrom B*, 749: 49-56, **2000**.
6. S.K. Ritter, "Debating BPA's Toxicity. The Precautionary Principle Serves as a Dividing Line in Arguments Over the Safety of Bisphenol A," *Chemical & Engineering News*, 89: 14-19, **2011**.

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

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc., 2011  
Published in Japan, December 1, 2011  
5990-9398JAJP

