

食品包装材の印刷用インク成分の GC/MS/MS 分析

アプリケーションノート

食品安全性

著者

Antony Lloyd, Catherine-Alix Salanson,
Hatice Semizer, Jennifer Leak,
Malcolm Driffield, Emma Bradley
The Food and
Environment Research Agency
Sand Hutton,
York,
YO41 1LZ
UK

Chris Sandy
Agilent Technologies UK Ltd
610 Wharfedale Road
Winnersh Triangle
Wokingham
Berkshire
RG41 5TP
UK



概要

Agilent 7000 GC トリプル四重極 GC/MS/MS システムを用いて、カートン用板紙包装材の外表面に使われる印刷用インクに含まれる可能性のある 20 種類の化学物質を測定する食品分析メソッドを開発しました。これらの化学物質は、カートン用板紙や裏移りを通じて食品と接触する表面に拡散し、食品に移る可能性があります。ここで述べるメソッドは、包装済み食品に含まれるインク物質を 1 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$) レベルで正確に測定するのに適しています。



Agilent Technologies

はじめに

食品パッケージの外表面に用いられる印刷用インクには、光開始剤、可塑剤、結合剤、着色剤、顔料、溶剤、乾燥剤などのさまざまな物質が含まれることがあります [1]。これらの物質は、以下の3つの移動方法により、食品そのものに移る可能性があります。

- 印刷用インクと食品との直接的な接触 (発生の可能性は低い)
- 包装材を通じた移動 (二次的な包装材を通じた移動も含む)
- 裏移りを通じた移動 (食品が包装される前に、印刷された表面と食品に触れる表面との直接的な接触による意図せぬ移動)

これまでに報告されている分析メソッドとしては、ベンゾフェノンなどの単一物質の GC/MS 測定 [2] や、ベンゾフェノン、4-メチルベンゾフェノン、関連派生物などの多数の関連物質の GC/MS 測定 [3] などがあります。食品におけるインク用物質の分析には、以下の3つの理由から、大きな困難が伴います。

1. 分析対象の多くの物質は濃度が低い – 通常は 10 ppb (食品 1 kg 中 10 µg) 以下が必要。
2. 幅広いインク用物質が分析対象となるため、選択的なサンプル抽出やサンプル精製手順の利用が制限され、サンプル抽出が不十分になる。
3. 印刷された包装材はインスタント食品などの複合食品を含むさまざまな食品に用いられているため、2の要因と相まって、多くの共抽出物質による干渉が生じる可能性がある。

これらの要因により、GC/MS では、食品サンプルに含まれるインク用物質の確実な定性および定量に必要な感度や選択性を得るのが難しくなることがあります。それぞれのリテンションタイムとターゲットイオンおよびクオリファイヤイオン (定量イオンと定性イオン) をもとに、各分析対象物の存在を確認する必要があります。共溶出物質の量の多さとその性質や、分析対象物の濃度の低さにより、リテンションタイムについてもイオン比についても、同定基準を満たすのが難しくなることがあります。こうした理由から、この研究では、食品中の 20 種類の印刷用インク成分を分析する GC/MS/MS メソッドを開発しました。GC/MS/MS を用いると、分析対象物と同じ質量を持つ夾雑物との分離選択性が向上するためです。印刷用インクに関するスイス条例 [1] では、包装材の食品と接触しない表面用のインクで使用されるものとして、数百の物質が示されています。インクの組成をあらかじめ知らなければ、分析対象物の選択は、干草の山から 1 本の針を探し出すくらい困難です。分析する物質をランダムに選択するのではなく、移動に関する報告や、多数の印刷紙/板紙包装材 (n = 50) をスクリーニングし、移動する可能性のある物質を測定する各研究プロジェクトの成果をもとに、20 種類のインク用化学物質を選択しました。

実験手法

サンプル前処理

英国のスーパーマーケットで食品サンプルを購入しました。食品をパッケージから出し、フードミキサーを使って均質化しました。図 1 では、サンプル前処理手順をフローチャートにまとめています。食品サンプルの一部に印刷用インク物質を過剰に添加し、回収率補正濃度を計算できるようにしました。

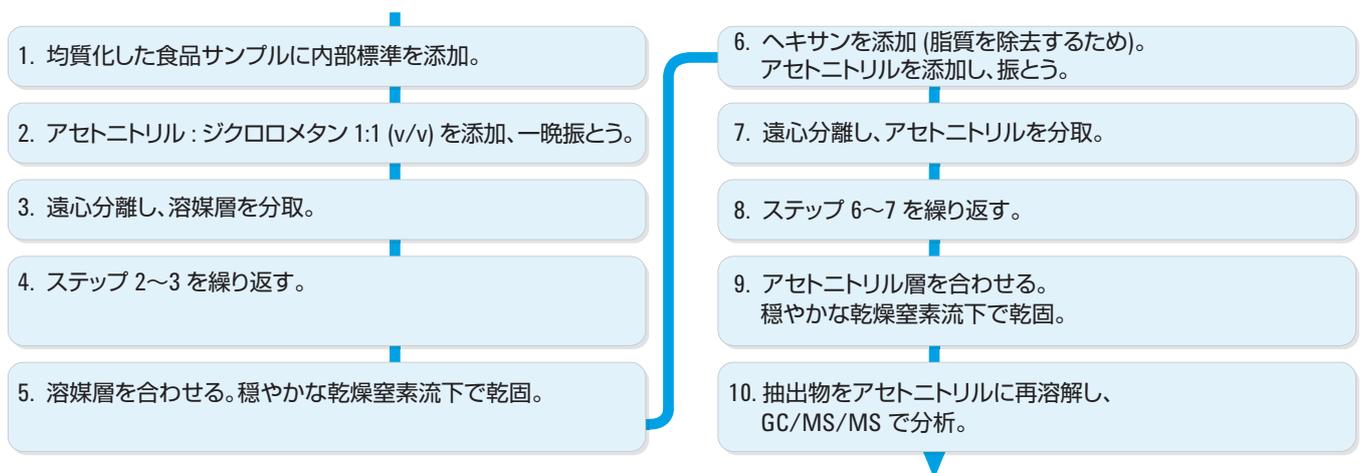


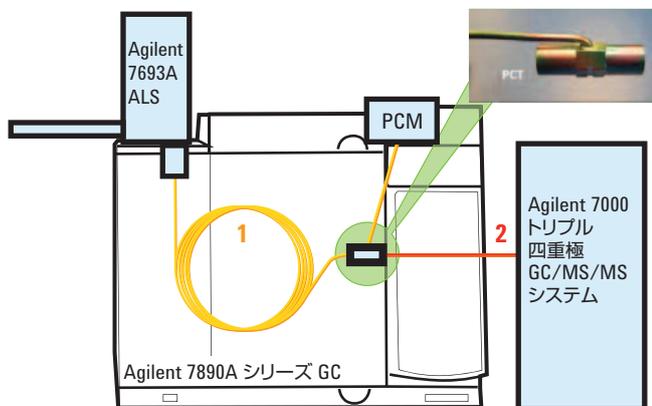
図 1. サンプル抽出および精製手順のフローチャート

サンプル分析

GC メソッドには、ポストラン、ポストカラムバックフラッシュを導入しました。バックフラッシュを用いることで、各分析後にカラムに残った高沸点マトリックス成分を迅速かつ効率的に (スプリットベントを通じて) 除去してから、次の注入を連続で行うことができます。バックフラッシュにより、以下のことが実現します。

- 分析対象物のリテンションタイムの高い再現性
- 堅牢なクロマトグラフィーと再現性の高い分析対象物のクロマトグラフィーピーク
- 高沸点物質による MS イオン源の汚染の防止
- 分析間に高温ベイクアウトを排除することで、カラム寿命を延長し、サイクルタイムを短縮

完全な GC 分析条件を表 1 に示しています。7000 GC トリプル四重極 GC/MS/MS システムを MS/MS 電子衝突 (EI) イオン化モードで使用し、各分析対象物につき 3 つのトランジションを用いたマルチブルリアクションモニタリング (MRM) により、分析対象物を検出および確認しました。MS/MS 条件を表 2 および 3 に示しています。図 2 は、GC/MS/MS システムのハードウェア構成の概略を示しています。



1. 一定圧力、カラム 30 m x 0.25 mm id x 0.25 μm HP-5MS
2. 一定圧力、リストラクタ 1.0 m x 0.15 mm id 不活性化フューズドシリカ

図 2. GC/MS/MS ハードウェア構成の概略図

表 1. 印刷用インク成分分析の GC 条件

カラム (1)	HP-5MS 30 m x 250 μm x 0.25 μm
カラム (2)	リテンションギャップ、1 m x 150 μm 不活性化フューズドシリカ
キャピラリーフロー装置	ニューマティクスコントロールモジュール (PCM) を備えた圧力制御ティアー (PCT)
オートサンブラ	Agilent 7693A
注入量	1 μL、ホットスプリットレス
注入ポート	EPC スプリット/スプリットレス
注入ポートライナ	スプリットレス、不活性化 4 mm id シングルテーパー + ガラスウール
注入口温度	280 °C
スプリットベントへのバージ流速	0.75 分で 50 mL/min
キャリアガス	ヘリウム
注入口圧力	17.0 psi
PCM 圧力	4.5 psi
オープンプログラム	100 °C (1 分) ~ 10 °C/min ~ 300 °C (5 分間保持)
ポストラン時間	3 分
ポストラン温度	320 °C
ポストラン注入口圧力	1.0 psig
ポストラン PCM 圧力	60.0 psig
MS トランスファー	280 °C
ライン温度	

表 2. 印刷用インク成分分析の MS 条件

電子エネルギー	-70 eV
チューン	EI オートチューン
EM ゲイン	10~60
MS1 分解能	1.2 u
MS2 分解能	1.2 u
MRM トランジション	表 3 参照
コリジョンエネルギー	表 3 参照
ドウェルタイム	25~100 ms
コリジョンセル	
ガス流速	窒素 1.5 mL/min、ヘリウム 2.25 mL/min
MS 温度	イオン源 280 °C、MS1 150 °C、MS2 150 °C

結果と考察

メソッド開発

まず、複数成分の標準溶液を用いて GC/MS/MS メソッドを開発しました。はじめに、フルスキャンモードでタイムセグメントとプリカーサーイオンを特定しました。5~50 V の範囲で 5 V 刻みでプロダクトイオンを生成させ、プロダクトイオンを特定しました。推定されるコリジョンエネルギーの見当がいたら、MRM モードを用い、コリジョンエネルギーを少しずつ変化させて最適化しました。その後、定量用にもっとも強度の高い MRM トランジションを、確認用に他の 2 つのトランジションを用いて、MRM メソッドを作成しました。自動 MRM 最適化ソフトウェアを用いて、ドウェルタイムを最適化しました。図 3 に、標準溶液の定量イオンの抽出イオンクロマトグラムを示しています。

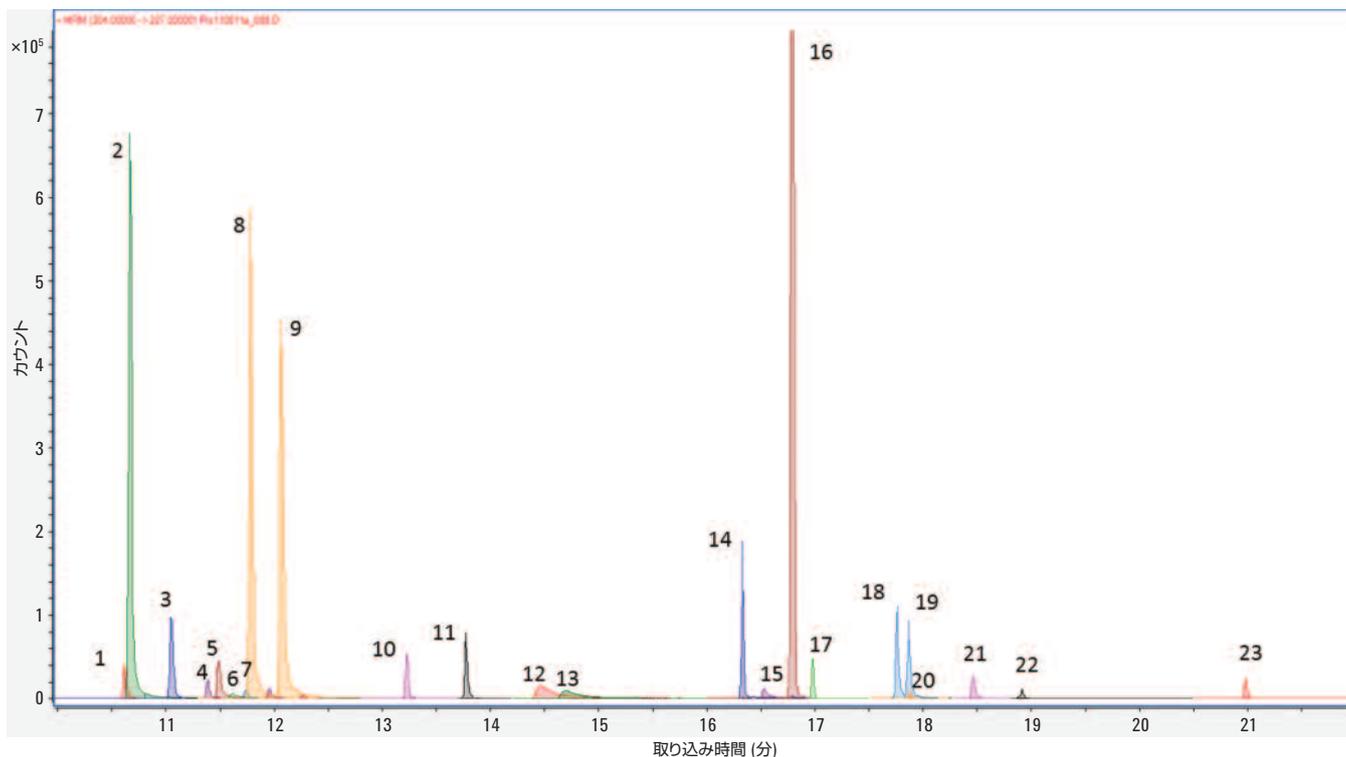


図 3. 20 種類の印刷用インク成分と 3 種類の内部標準を示す複数成分標準溶液の定量イオンの抽出イオンクロマトグラム (ピーク番号は表 3 を参照)

表 3. 分析対象物のリテンションタイム、MRM トランジション、コリジョンエネルギー

TS	セグメント 開始時間 (分)	No. 分析対象物	RT (分)	定量/ プリカーサー イオン	プロダクト イオン	CE (V)	定性/ プリカーサー イオン	プロダクト イオン	CE (V)
1	10.00	1 d ₁₀ -ベンゾフェノン (IS)	10.75	192	110	10	192/192	82/54	34/50
		2 ベンゾフェノン	10.81	182	105	12	182/182	152/77	36/36
		3 2-メチルベンゾフェノン	11.19	195	177	16	195/195	165/152	36/36
2	11.30	4 1-ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトン	11.52	99	81	7	99/99	79/55	16/16
		5 4-ジメチルアミノ安息香酸エチル	11.61	193	164	22	193/193	148/77	14/46
		6 N-エチル-p-トルエンスルホンアミド	11.68	184	91	16	184/184	155/65	1/40
		7 2-ヒドロキシベンゾフェノン	11.86	198	77	42	198/198	141/115	36/44
		8 3-メチルベンゾフェノン	11.92	196	181	3	196/196	153/119	24/10
		9 4-メチルベンゾフェノン	12.20	196	181	3	196/196	153/119	24/10
3	12.80	10 2,2-ジメトキシ-2-フェニルアセトフェノン	13.37	151	105	12	151/151	91/77	14/26
4	13.70	11 2-ベンゾイル安息香酸メチル	13.91	240	163	1	240/240	105/77	16/40
5	14.20	12 4-フルオロ-4-ヒドロキシベンゾフェノン (IS)	14.44	216	121	12	216/216	93/65	34/44
		13 4-ヒドロキシベンゾフェノン	14.67	198	121	10	198/198	93/77	30/38
6	16.00	14 Bis-(2-エチルヘキシル) フマレート	16.47	112	55	14	112/112	83/70	1/2
		15 フラボン (IS)	16.60	222	194	12	222/222	165/92	40/36
		16 2-エチルヘキシル-4-(ジメチルアミノ) ベンゾエート	16.92	277	165	10	277/277	164/148	30/30
7	16.95	17 2-メチル-4-(メチルチオ)-2-モルフォリノプロフェノン	17.10	128	84	14	128/128	69/56	26/24
8	17.50	18 4-イソプロピルチオキサントン	17.88	254	239	14	254/254	196/105	36/30
		19 2-イソプロピルチオキサントン	17.98	254	239	14	254/254	196/105	36/30
		20 リン酸トリフェニル	18.0	326	233	10	326/326	215/170	8/18
9	18.30	21 4-フェニルベンゾフェノン	18.57	258	181	12	258/258	153/105	32/36
10	18.80	22 2,4-ジエチル-9H-チオキサントン-9-オン	19.0	268	253	20	268/268	237/165	40/46
11	20.50	23 4,4-(メチルフェニルチオ) ベンゾフェノン	21.09	304	227	16	304/304	184/105	38/18

サンプル分析

前述のメソッドを用いて、さまざまな食品サンプルを分析しました。カートン用板紙の一次パッケージと直接接触する2つのサンプル(冷凍の魚とパスタシート)から、印刷用インク成分が検出されました。濃度と回収率を表4に示しています。冷凍の魚からはベンゾフェノンと4-フェニルベンゾフェノンが、パスタシートからは4-フェニルベンゾフェノンが検出されました。これらの物質の化学構造を図4に示しています。図5では、操作ブランク、サンプル、過剰添加サンプル、標準溶液について、ベンゾフェノンと4-フェニルベンゾフェノンのMRM トランジションを示しています。この図では、化合物の定量トランジションと2つの確認トランジションを化合物一覧モードで示しています。この方法は、データを迅速に精査するのにきわめて有用です。図6は、2つの化学物質の検量線を示しています。分析した濃度範囲(4-フェニルベンゾフェノンについては2.0~20 µg/kg、ベンゾフェノンについては360~3600 µg/kgに相当)全体で良好な直線性(どちらのケースでも >0.999) が得られていることが分かります。

表4. サンプルから検出された印刷用インク成分の濃度と回収率

サンプルの種類	パッケージ	検出された印刷用インク成分	回収率 補正濃度 (µg/kg)	回収率 (%)
冷凍の魚	カートン用板紙	ベンゾフェノン	560	97
冷凍の魚	カートン用板紙	4-フェニルベンゾフェノン	11	96
パスタ	カートン用板紙	4-フェニルベンゾフェノン	2.4	91

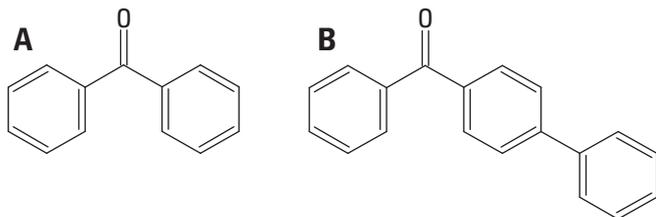


図4. a) ベンゾフェノンと b) 4-フェニルベンゾフェノンの化学構造式

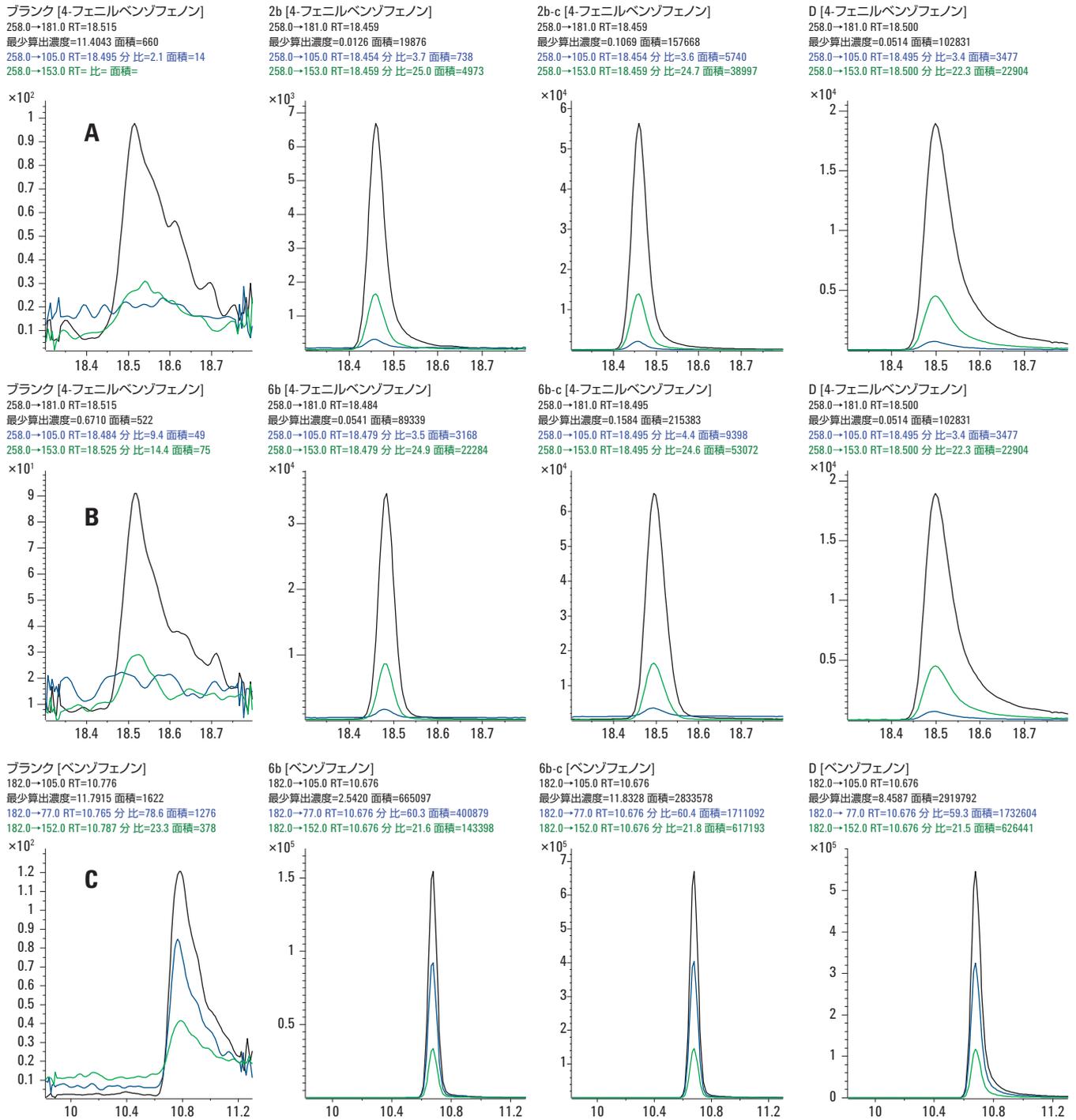


図 5. 操作ブランク、サンプル、過剰添加サンプル (4-フェニルベンゾフェノンは 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ベンゾフェノンは 1800 $\mu\text{g}/\text{kg}$) と標準溶液 (4-フェニルベンゾフェノンは 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ベンゾフェノンは 2700 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に相当) の MRM トランジション。a) パスタシートサンプル中の 4-フェニルベンゾフェノン、b) 冷凍の魚サンプル中の 4-フェニルベンゾフェノン、c) 冷凍の魚サンプル中のベンゾフェノンについて、定量トランジションと 2 つの確認トランジションを示しています

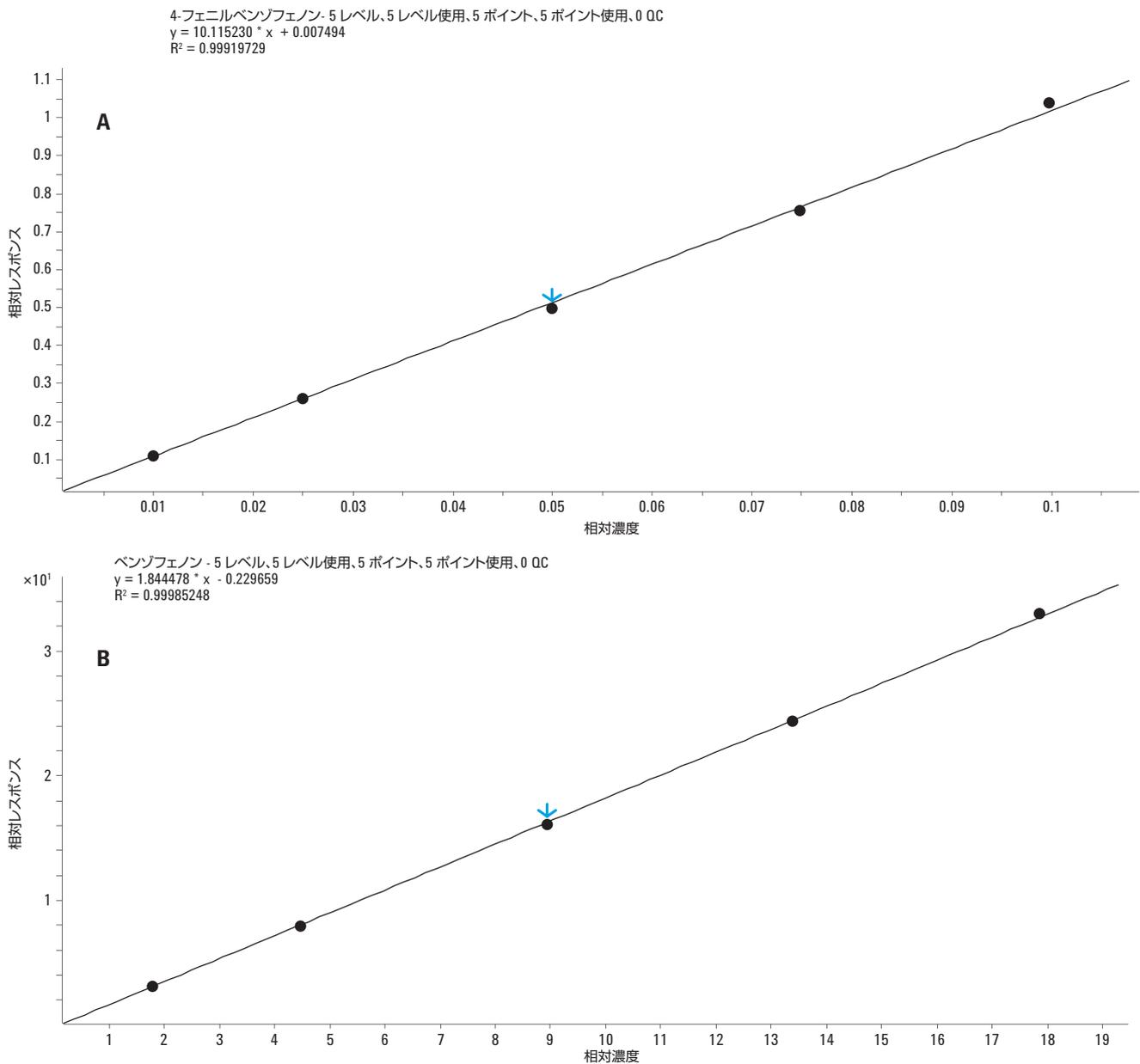


図 6. a) 4-フェニルベンゾフェノン (濃度は 2.0~20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に相当) と b) ベンゾフェノン (濃度は 360~3600 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に相当) の検量線

これらのデータを解釈するための補足として紹介すると、印刷用インク成分の移動に関して 2010 年 10 月から 2012 年 3 月に公開された 10 件の RASFF 通知のうち、ベンゾフェノンは 4 件で報告され、その濃度は粉ミルクの 430 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (ppb) からシナモンの 50 mg/kg (ppm) までの範囲でした。このアプリケーションノートにおいて、冷凍魚サンプルから検出されたベンゾフェノンの濃度

は、560 $\mu\text{g}/\text{kg}$ でした。これは、前述の濃度範囲の低いほうの値に近いものです。4-フェニルベンゾフェノンについては、ココア/ヘーゼルナッツフィリング入りの有機米ウエハースで 390 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、チョコレートで 21 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度で報告されました。このアプリケーションノートでは、4-フェニルベンゾフェノンの検出濃度は 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下でした。

結論

包装材の印刷はメーカーにとっても消費者にとってもきわめて重要ですが、印刷用インクの成分が食品に移ることがあります。GC/MS/MS を用いて 20 種類の既知の印刷用インク成分を分析するメソッドを開発し、実際の食品サンプルで効果を実証しました。

参考文献

- 1 Ordinance of the FDHA on Materials and Articles (817.023.21) found at: <http://www.bag.admin.ch/themen/lebensmittel/04867/10015/index.html?lang=en>
- 2 W.A.C. Anderson, L. Castle. Benzophenone in cartonboard packaging materials and the factors that influence its migration into food (2003) Food Additives and Contaminants, 20, 6, 607-618.
- 3 R. Kovivikko, S. Pastorelli, A. Rodriguez-Bernaldo de Quiros, R. Paseiro-Cerrato, P. Paseiro-Losada, C. Simoneau. Rapid multi-analyte quantification of benzophenone, 4-methylbenzophenone and related derivatives from paperboard food packaging (2010) Food Additives and Contaminants, 27, 10, 1478-1486.

詳細

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 をご覧ください。

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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2012

Printed in Japan

April 5, 2012

5991-0179JAJP



Agilent Technologies