

分析装置 : Pegasus® BT 4D

ミネラルオイル分析の結果を信頼できるものに

質的／量的に優れた情報の活用による信頼性の向上

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

キーワード : ミネラルオイル、MOSH、MOAH、PEGASUS BT 4D、GCxGC-TOFMS

はじめに

ミネラルオイル炭化水素 (MOH) は、食品、包装、化粧品など様々な分野で注目の話題となっています。ここ数年のあいだに、MOH 汚染物質に関する大きな不祥事がいくつか発生しています。直近では 2019 年 10 月に、乳児用粉ミルクへの MOH 汚染物質の混入が判明した、というものがありました。このため、MOH の同定および定量のための信頼性の高い堅牢なワークフローを求める声が高まっています。実際に、公的検査機関、商業検査機関、民間企業、および非政府組織などが、これらの汚染物質の分析で使用される方法論やプロトコルの統一を求めています。

MOH がさまざまな種類の石油留分から生み出されていることは疑いの余地がありません。これらの石油留分には特定の用途に応じた名前が付けられており、幾つか例を挙げると、流動パラフィン、パラフィン、ワセリン、ミネラルオイル、パラフィンオイル、およびオゾケライトなどがあります。消費者によって摂取される方法もさまざまです。たとえば、食品添加物、医療で処方される下剤や潤滑剤、消費者製品に含まれるエモリエント剤、あるいは食品と接触する材料に使用される印字用インクや包装材などで使用されています。¹⁻³

MOH は 2 つの主要なサブクラスに分けられています。1 つは MOSH (ミネラルオイル飽和炭化水素) で、これには直鎖、分枝、およびアルキル置換シクロアルカンなどが含まれます。もう 1 つは MOAH (ミネラルオイル芳香族炭化水素) で、これにはおもにアルキルベンゼンやアルキルナフタレンなどのアルキル置換 (ポリ) 芳香族炭化水素が含まれます。

これまで、MOH 汚染物質分析における標準的な手法として採用されてきたのは、水素炎イオン化検出を組み合わせたオンライン LC-GC システム (LC-GC-FID) で、これは 2009 年に Biederman らによって最初に提唱されたものでした。⁴ 多くの検査機関で広く採用されていますが、この手法を用いて生成されたデータの信頼性にはまだ疑問が残っています。⁵⁻⁷ 実際に、選択的検出器 (すなわち質量分析装置) を使用した確認法、検証されたプロトコル、および最終クロマトグラムの標準化された解釈および積分方法の欠如により、より正確かつ堅牢で、信頼性の高い手法の要求に関する議論が絶えず引き起こされています。この点で、MOSH および MOAH の測定における不確実性の約 20% は、クロマトグラムの解釈と積分が占めていることが報告されています。⁸ このような高い比率は、多くの不確定要素に関連していると思われます。これらの不確定要素には、クロマトグラムは単一ピークではなく分離されていないこぶであるということ、こうしたこぶの定量を広範な炭素範囲 (最大 C50) で行う必要があり、これによりカラムブリード上部に溶出すること、さらには干渉から生じたこぶの上にあるピークを差し引く必要があることなどがあります。これらが要因となって、解釈に多くの不確実性がもたらされています。

このアプリケーションノートでは、データの積分および解釈に関連する不確実性の解消に貢献する新しいワークフローについて説明します。このワークフローにより、信頼性の高い堅牢な結果を得ることができます。

LC-GCxGC-TOFMS/FID に、新バージョンの ChromaTOF® ソフトウェアを組み合わせ使用しました。MOSH/MOAH 向けに設計および実装されたものです (図 1)。

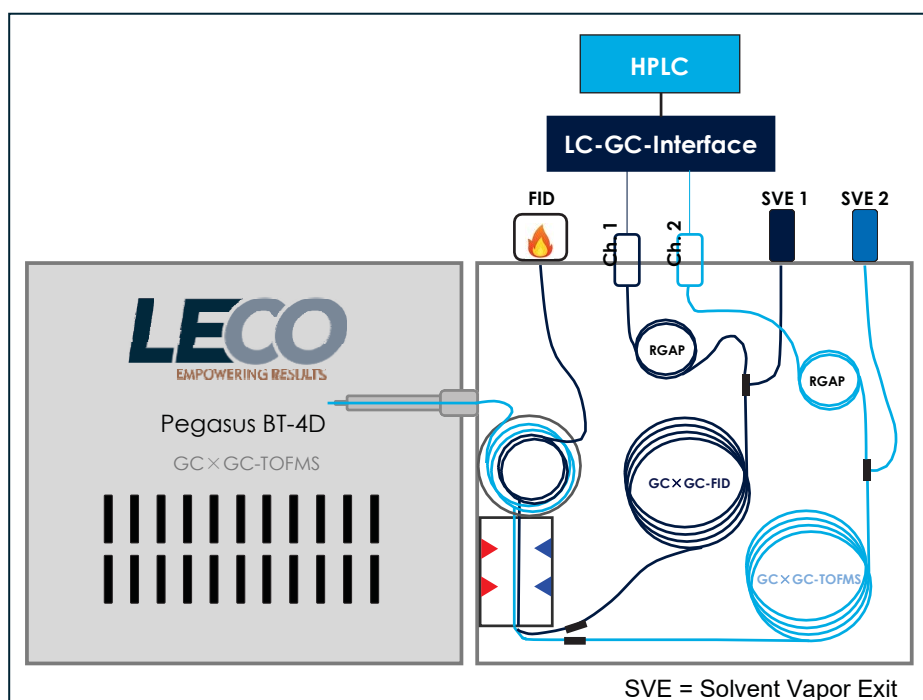


図 1 : LC-GCxGC-TOFMS/FID 概要

実験概要

LC-GC×GC-TOFMS/FID プラットフォームに関連するすべての実験パラメータを表 1 に示します。MOSH および MOAH 内部標準 (Restek #31070)、および保持時間標準 (Restek #31076) を使用し、公表されたガイドラインに沿って炭素画分の定量および定義を行いました。^{9,10}

パラフィンオイル (Supelco #18512) およびアルカン混合液 (C8-C40, Supelco) で構成された溶液を標準試料として使用し、システムパフォーマンスの検証を行いました。提携先より提供された 2 種類の動物飼料サンプルも、同一プラットフォームの 1 次元および 2 次元モードを使用して分析しました。

MOSH/MOAH 専用に開発された特別バージョンのソフトウェアにより、すべてのデータ処理を *ChromaTOF* のみで完結させることができました。

同試料の MOSH ならびに MOAH 画分は、それぞれを FID および *PEGASUS* BT 4D TOFMS に同時に送られました。GC×GC-TOFMS および GC×GC-FID 両方のシグナルを取得するため、各試料につき 2 回の分析が必要となりました。

表 1：装置パラメータ

LC	1260 Infinity II (Agilent)
Column	Allure Silica 250mm x 2.1mm i.d. x 5µm (Restek #9160572)
Detector	Variable Wavelength Detector at 230 nm
Conditions	Solvent A: Hexane; Solvent B: Dichloromethane. 0 min→100% A; 1.5-6 min→65% A @ 0.3mL/min @ 6.10 min backflush→100% B at 0.5mL/min (9 min)
Interface	CHRONECT LC-GC (Axel Semrau)
Transfer conditions	MOSH = 2-3.5 min and MOAH = 4.4-5.9 min (450µL each fraction)
Transfer gas pressures	90kPa MOSH and 110kPa MOAH
GC	LECO GC×GC QuadJet™ Thermal Modulator and FID
COLUMNS	1D: Rxi-17SilMS, 15m x 0.25mm i.d. x 0.25µm coating (Restek #14120) 2D: Rxi-1ms 2m x 0.15mm ID x 0.15µm coating (Restek #43801)
Flows	2.5mL/min @ TOFMS channel; 3.1mL/min @ FID channel
Oven Program	60°C (hold 8 min), ramp 8°C/min to 350°C (hold 5 min)
Secondary Oven	+5°C (relative to the main oven temperature)
Modulator	+15°C (relative to the secondary oven temperature)
Modulation Period	10 s
Transfer line	340°C
MS	LECO Pegasus BT 4D
Ion Source Temp	250°C
Mass Range	40-600
Acquisition Rate	200 spectra/s
FID Conditions	H ₂ : 30mL/min; Air: 300mL/min; Make-up gas (He): 25mL/min Temperature: 360°C

結果および考察

このアプリケーションノートでは、JRC の推奨に沿って処理/積分された従来の LC-GC-FID データと比較して、LC-GC×GC-TOFMS/FID システムにより生成されたデータの信頼性、正確性、および堅牢性を検証することを目的としました。⁹ 各分析の前に、MOSH/MOAH 保持時間標準を注入することによりシステムの性能チェックを行い、C20 に対する各成分 (C10 ~ C50) の感度係数が 0.8 ~ 1.2 の範囲内にあることを確認しています。

実試料では、MOSH/MOAH 汚染物質により生成される 3 次元のこぶ全体の積分、とりわけ、そのようなこぶの上に重なるピークの除去に限界があることが LC-GC×GC-TOFMS/FID システムの主な弱点であることが明らかになりました。実際のところ、市販されているほとんどの GC×GC ソフトウェアオプションでは、分離されていないシグナル全体ではなく 2 次元のシングルピークの積分に基づくアルゴリズムが採用されています。さらに、こぶの上に重なるシングルピークでは、こぶの下にある部分を除去せずに、上にかかる部分のみを積分することが困難であるという問題がありました。2012 年に EFSA で提唱されたように、過去には GC×GC-FID を使用した MOSH/MOAH の定量が試みられましたが、この問題については適切に対処されたことはありませんでした。¹¹⁻¹⁴

これらの短所を克服するため、こぶ上に重なるピークのトリミングが可能な新しいアルゴリズムが LECO 社のソフトウェアエンジニアによって開発されました。このアルゴリズムは 1 次元 (GC-FID) データおよび 2 次元 (GC×GC-FID) データのいずれにも対応しており、ブランクシグナルを自動的に減算することによってカラムブリードからのあらゆる影響を除外することが可能です。1 次元では、アルゴリズムによりこぶ上にある良好な形状の狭いピークを自動的に除去し、トリミングされたピークの底部を適切に補間する新たなラインが作成されるため、こぶのシグナルを保持することができます (図 2)。

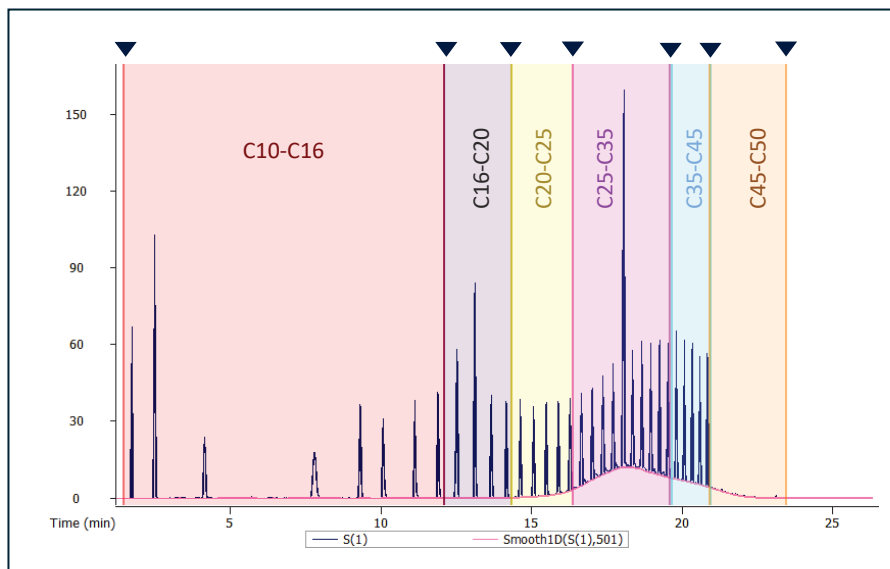


図 2：青色部分：アルカン混合液 C8-C40 (Supelco) でスパイク処理したパラフィンオイル (Supelco #18512) のトレース。ピンク色部分：ChromaTOF ソフトウェアにより作成された、トリミングされたピークの底部を補間してスムージングしたトレース。

2 次元でもほぼ同様の概念が適用されています。ChromaTOF により、すべての 2 次元ポイントに対して 1 次元クロマトグラムが自動的に再構築され、その後前述と同様のアルゴリズムにより上に重なったピークが除去されます。これにより「クリーンな」ピークを得ることができ、FID シグナルを 1 次元または 2 次元クロマトグラムとして可視化することが可能になります。1 次元で再構築され可視化された 1 番目のケースの場合、ユーザーはより伝統的なデータの検査を実行し、データのスムージングを評価することができます。2 次元で可視化された 2 番目のケースの場合、ユーザーは 2 次元等高線プロットに引き続き保持されているすべての有用な情報を活用することができ、MOAH サブクラスを個別に分類および定量することが可能になります (図 3)。

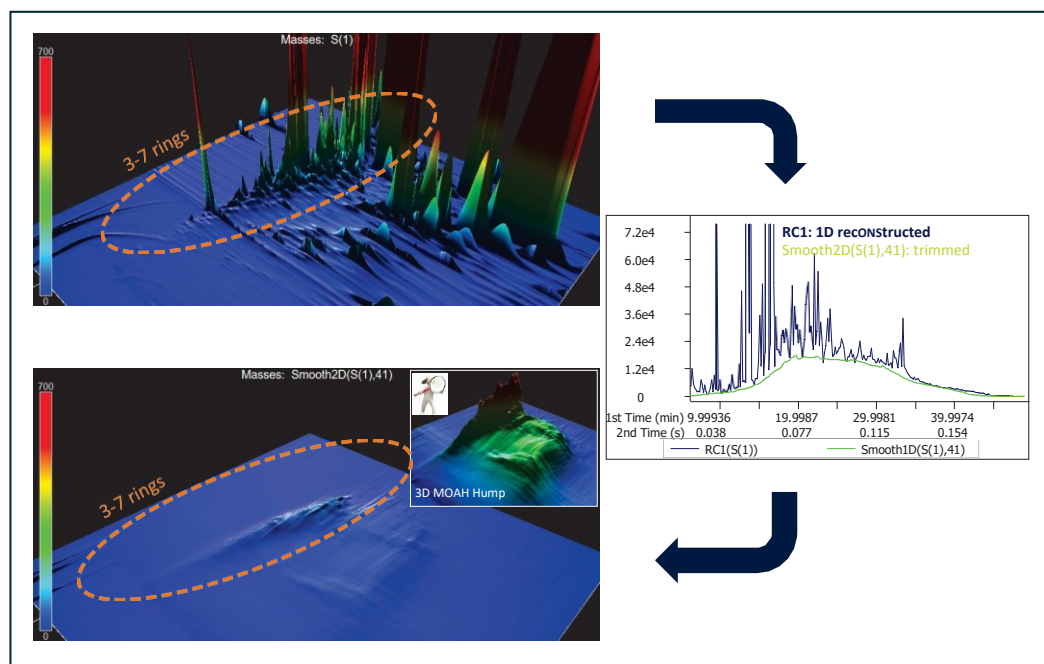


図 3：上側の 3 次元プロットでは、MOAH (3-7 環芳香族) により汚染された食品試料を示している。同じプロットが ChromaTOF により再処理され、こぶ上のピークが除去されている (下側の 3 次元プロット)。右側は、トリミング処理の詳細な評価で使用された再構築済みの 1 次元クロマトグラムを示している。

TOFMS を使用した並列検出の利点は、ターゲット成分およびノンターゲット成分の両方を検索できることにあります。マススペクトルを利用することにより、干渉として減算する必要のあるピークの同一性をさらに確認することができます (図 4 上)。さらに、「スペクトルフィルター」機能の使用により、検出された成分の化学的性質をより迅速に確認することが可能です。この機能では難解な解釈に対する追加のサポートが提供されており、不確実性を低減させることができます (図 4 中)。最後に、TOFMS トレースを使用すると特定の種類の成分 (例: 3-7 環芳香族) の存在も簡単に同定することができ、特定の試料において発生している汚染のより詳細な評価が可能です (図 4 下)。

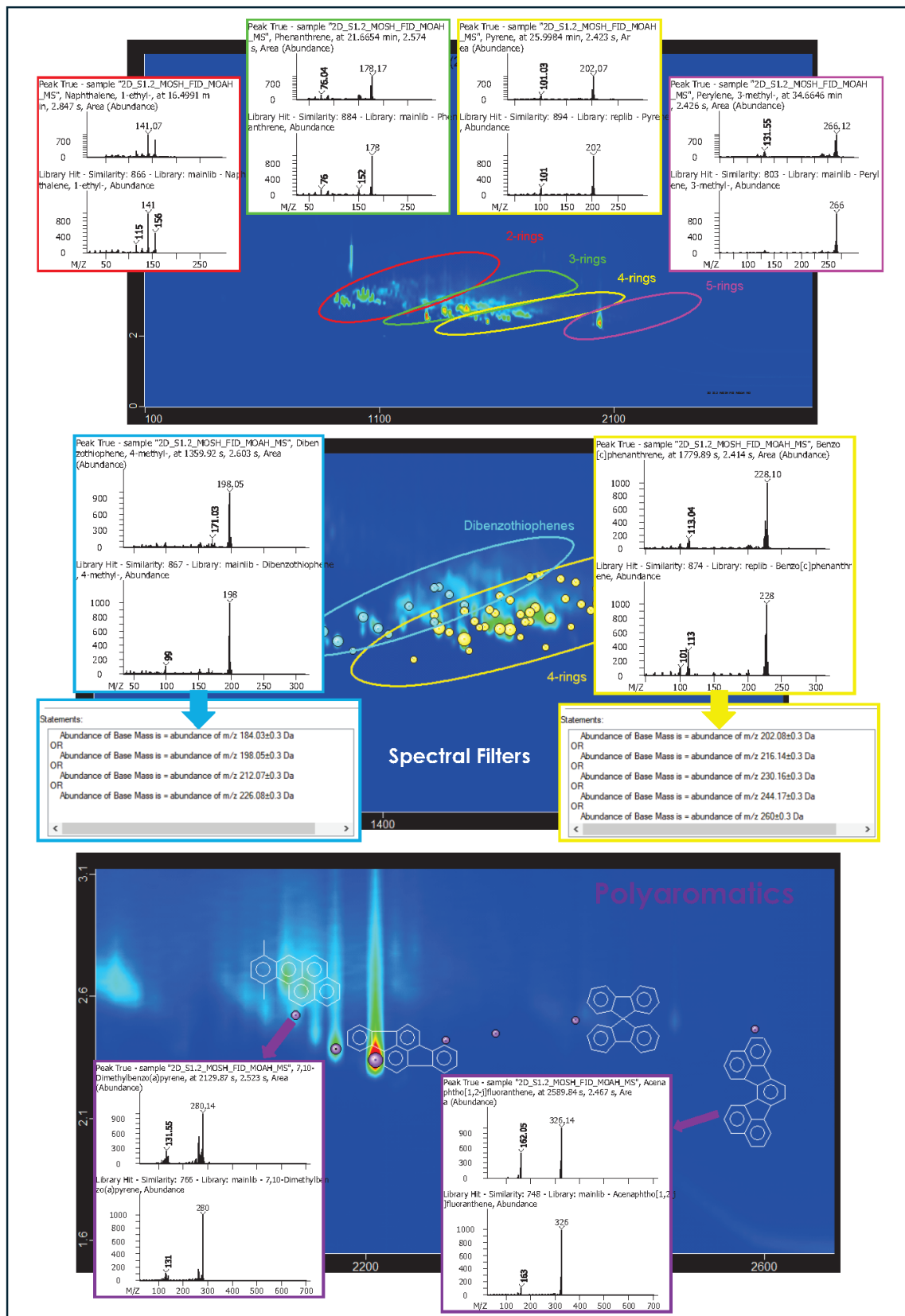


図 4: 上: GCxGC-TOFMS による、2-5 環芳香族に特有の m/z フラグメントに基づく分類。中: 分類を精緻化するため、特定のスペクトルフィルターを適用。下: 多環芳香族の同定 (5 環以上)。

パラフィンオイル-アルカン混合液を 1 次元 (LC-GC-FID) および 2 次元 (LC-GCxGC-TOFMS/FID) の両方で繰り返し 3 回分析し、MOSH/MOAH 向けの *ChromaTOF* ソフトウェアバージョンをテストしました。1 次元および 2 次元それぞれの期待値 3.7% および 2.2% との比較により、2 つの手法が概ね一致していることが確認されました。加えて、2 つの動物飼料サンプルを分析して 1 次元および 2 次元の結果の比較が行われました。C10-C50 の範囲で MOSH および MOAH の総量として評価することにより、図 5 のとおり各結果が同等であることが示されています。

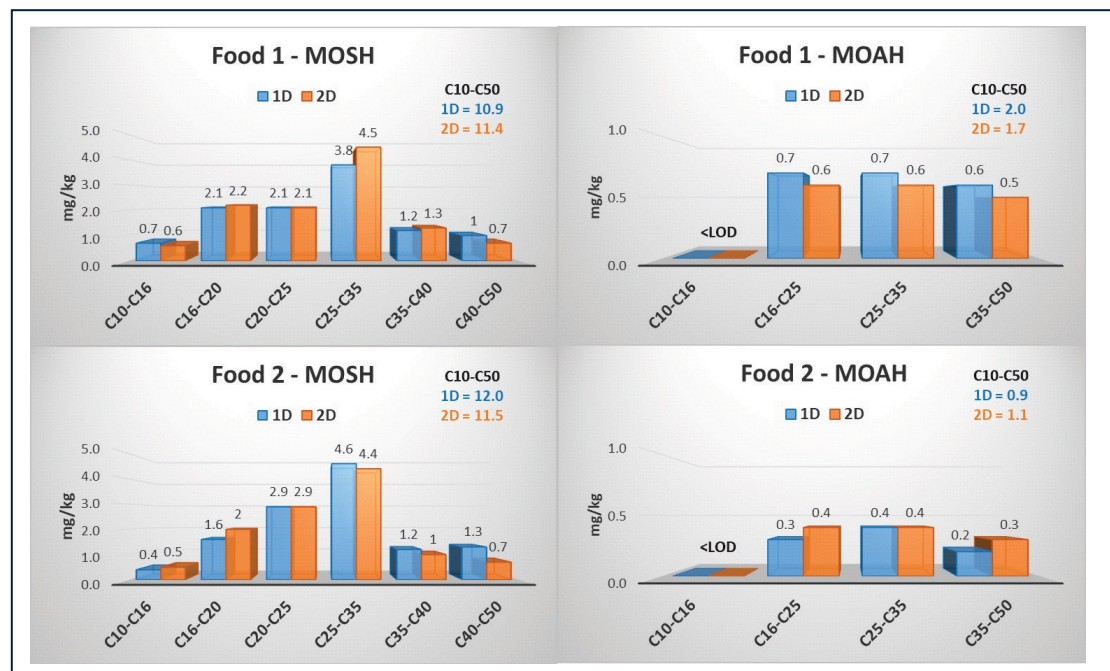


図 5 : LC-GC-FID および LC-GCxGC-TOFMS/FID により取得した定量データの比較。2 つの手法が概ね一致していることがグラフに示されている。

まとめ

このアプリケーションノートでは、MOSH および MOAH の分析について EU が公式に推奨する手法（すなわち LC-GC-FID）と LECO 社の GCxGC-TOFMS/FID テクノロジーの結合が可能であることが実証されました。

この統合された LC-GCxGC-TOFMS/FID 手法を MOSH/MOAH 専用に開発された新しい *ChromaTOF* ソフトウェアと組み合わせることにより、非選択的分離/検出手法の使用によって生じる不確実性のほとんどを低減させることができます。図 5 でレポートされている結果には、この新たなプラットフォームによって生成された定量データの信頼性がはっきりと示されています。広範な種類の汚染物質およびそれらに共通する干渉物質の存在をより確実に確認できるようになりました。これらに関する知識をさらに深めるにより多くの研究が必要であることを考えると、今回の取り組みを最先端の成果として評価する必要があります。

参考文献

- ¹Grob K, Artho A, Biedermann M, Egli J. Food contamination by hydrocarbons from lubricating oils and release agents: determination by coupled LC-GC. Food Addit. Contam. 1991; 8:437-446. doi:10.1080/02652039109373993
- ²Moret S, Grob K, Conte LS. Mineral oil polyaromatic hydrocarbons in foods, e.g. from jute bags, by on-line LC-solvent evaporation (SE)-LC-GC-FID. Z Lebensm Unters Forsch A. 1997; 204:241-246. doi:10.1007/s002170050071
- ³Castle L, Nichol J, Gilbert J. Migration of mineral hydrocarbons into foods. 4. Waxed paper for packaging dry goods including bread, confectionery and for domestic use including microwave cooking. Food Addit Contam. 1994; 11:79-89. doi:10.1080/02652039409374204
- ⁴M. Biedermann, K. Fiselier, K. Grob, Aromatic hydrocarbons of mineral oil origin in foods: method for determining the total concentration and first result, J. Agric. Food Chem. 57 (2009) 8711–8721. doi:10.1021/jf901375e
- ⁵L.W. Spack, G. Leszczyk, J. Varela, H. Simian, T. Gude, R.H. Stadler, Understanding the contamination of food with mineral oil: the need for a confirmatory analytical and procedural approach, Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess. 34 (2017) 1052–1071, doi: 10.1080/19440049.2017. 1306655
- ⁶M. Biedermann, G. McCombie, K. Grob, O. Kappenstein, C. Hutzler, K. Pfaff, A. Luch, FID or MS for mineral oil analysis? J. Fur Verbraucherschutz Und Leb. 12 (2017) 363–365, doi: 10.1007/s00003-017-1127-8
- ⁷S. Bratinova, E. Hoekstra, H. Emons, C. Hutzler, O. Kappenstein, M. Biedermann, G. McCombie, The reliability of MOSH/MOAH data: a comment on a recently published article, J. Fur Verbraucherschutz Und Leb. (2020) 2–4, doi: 10.1007/s00003-020-01287-w. 18]
- ⁸Biedermann M., Grob K. On-line coupled high performance liquid chromatography–gas chromatography for the analysis of contamination by mineral oil. Part 2: Migration from paperboard into dry foods: Interpretation of chromatograms J. Chrom. A, 2012; 1255:76-99
- ⁹S. Bratinova, E. Hoekstra, Joint Research Center (JRC). Guidance on sampling, analysis and data reporting for the monitoring of mineral oil hydrocarbons in food and food contact materials. In the frame of Commission Recommendation (EU) 2017/84, 2019. doi:10.2760/208879
- ¹⁰BfR. Messung Von Mineralöl—Kohlenwasserstoffen in Lebensmitteln Und Verpackungsmaterialien In German]. <http://www.bfr.bund.de/cm/343/messung-vonmineraloel-kohlenwasserstoffen-in-lebensmitteln-und-verpackungsmaterialie;pdf>. Accessed November 13, 2017. Berlin, Germany: Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR); 2011
- ¹¹M. Biedermann, L. Barp, C. Kornauth, T. WÜRGER, M. Rudas, A. Reiner, N. Concin, K. Grob, Mineral oil in human tissues, Part II: characterization of the accumulated hydrocarbons by comprehensive two-dimensional gas chromatography, Sci. Total Environ. 506–507 (2015) 644–655, doi: 10.1016/j.scitotenv.2014. 07.038
- ¹²G. McCombie, K. Hötzer, J. Daniel, M. Biedermann, A. Eicher, K. Grob, Compliance work for polyolefins in food contact: results of an official control campaign, Food Control 59 (2016) 793–800, doi: 10.1016/j.foodcont.2015.06.058
- ¹³G. Purcaro, P.Q. Tranchida, L. Barp, S. Moret, L.S. Conte, L. Mondello, Detailed elucidation of hydrocarbon contamination in food products by using solid-phase extraction and comprehensive gas chromatography with dual detection, Anal. Chim. Acta. 773 (2013) 97–104, doi: 10.1016/j.aca.2013.03.002
- ¹⁴M. Zoccali, P.Q. Tranchida, L. Mondello, On-line liquid chromatography-comprehensive two dimensional gas chromatography with dual detection for the analysis of mineral oil and synthetic hydrocarbons in cosmetic lip care products, Anal. Chim. Acta. 1048 (2019) 221–226, doi: 10.1016/j.aca.2018.10.069

執筆者

Sebastiano Panto*, Giorgia Purcaro**, Nick Jones*

*LECO Corporation

**Analytical Chemistry Lab, Gembloux Agro-Bio Tech, University of Liège, Gembloux, 5030, Belgium



LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496

info@leco.com · www.leco.com | ISO-9001:2015 Q-994 | LECO は、LECO 社の登録商標です。

PEGASUS、ChromaTOF は、LECO 社の登録商標です。