

化粧品中の 57 種類のアレルゲンの高い 選択性による GC/TQ 分析

Agilent 8890 GC システムと
Agilent 7000E GC/TQ システムを利用

著者

Stéphane Découflet,
Hansel Koelblen, and
Michael Rothaupt
Agilent Technologies, Inc.

概要

アレルゲンの可能性のある成分のリストの拡大に伴い、化粧品メーカーは、製品中の含有物を同定して定量し、ラベル表示する必要があります。化粧品は複雑な混合物であり、クロマトグラフィー干渉やスペクトル干渉を引き起こす可能性のある多くの化合物が存在するため、分析が困難な場合があります。

このアプリケーションノートでは、デュアルカラム設定を備えた Agilent 8890 GC と Agilent 7000E GC/TQ を用いて、化粧品中の 57 種類のアレルゲン芳香物質とその関連異性体を高い選択性で分析した結果を報告します。この GC/TQ メソッドは、Agilent MassHunter Optimizer ソフトウェアを使用して、既存のガスクロマトグラフ/質量選択検出器 (GC/MSD) メソッドから迅速かつ容易に最適化できます。GC/TQ メソッドの高い選択性と信頼性の高い定量で、共溶出が原因の不確実性を低減してデータの信頼性を高めることにより、偽陽性や偽陰性のリスクを低減します。

はじめに

アレルギーには、敏感な人にアレルギー反応を引き起こす、合成および天然の多様な化合物が含まれています。アレルギーは、シャワージェル、石鹸、シャンプー、クリーム、顔用化粧品など、多くの化粧品に含まれています。これらの化合物は多くの場合、製造時に化粧品に意図的に添加されるのではなく、最終製品を構成する基礎原材料に含まれている物質です。本研究では、芳香物質に一般的に含まれているアレルギーを測定するメソッドに焦点を当てます。

世界中の規制機関は、化粧品や香水のような一般消費財に含まれているアレルギーに関する規制を設けており、頻繁に更新しています。2012年、欧州消費者安全科学委員会（SCCS）は、人にアレルギーを引き起こす可能性のある87種類の芳香物質を同定しました。そこで、欧州委員会は、2023年、化粧品に含まれているアレルギー性物質のラベル表示に関する、欧州議会および欧州理事会の規則（EC）番号 1223/2009 を改正する、規則 2023/1545 を発表しました。¹この新規則により、26種類のアレルギーで構成される過去のリストが、87種類の化合物に拡大されました。

このような規制は、欧州に限定されるものではありません。化粧品現代化規制法（Modernization of Cosmetics Regulation Act of 2022：MoCRA）は、1938年に連邦食品医薬品化粧品法（FD&C）が成立して以来、米国食品医薬品局の化粧品規制権限を最も大幅に拡大したものです。²これらの更新された法律および規則は、化粧品の安全性を確保するのに役に立っています。化粧品中にアレルギーが存在するかどうかを判断するためには、GC/TQによる分析のような高感度で選択性の高い分析技法が必要になります。

実験

本研究では、MassHunter Workstation ソフトウェアで制御される7000E GC/TQで構成された8890 GCを使用しました。化粧品のような複雑なマトリックス中の化合物を分析するには、極性の異なる2種類のカラムを用意して、結果を確認することが有用です。今回、極性固定相にはAgilent J&W DB-WAX ウルトライナート GC カラム、非極性固定相にはAgilent J&W DB-5ms ウルトライナート GC カラムを使用しました。1.5 m の不活性化フューズドシリカチューブ（部品番号 CP801810）とフレキシブル金メッキフェラル（部品番号 G2855-28501）付きの不活性小型スプリッタ（部品番号 G3181-60500）を用いることにより、質量分析計を停止およびベントすることなく、両方のカラムを同時に接続することができるため、機器の稼働時間が最大化されます。

図1に、機器構成図を示します。両カラムともに同じ分析メソッドを使用しており、その詳細を表1と2に示します。分析に使用したキャリブレーション溶液は、Millipore Sigmaの芳香アレルギー混合物A1とA2（製品番号89131と16558）を用いて、段階希釈により調製しました。

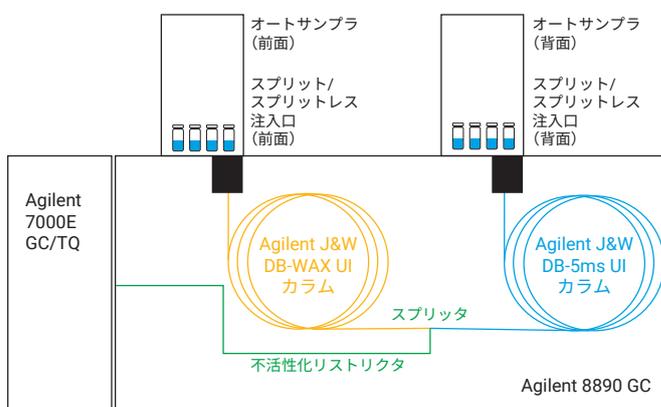


図1. アレルギーのデュアルカラム分析のためのGC/TQ機器の設定

表1. Agilent 8890 GCとAgilent 7000E GC/TQを用いたアレルギー分析のメソッドパラメータ

	極性メソッド	非極性メソッド
注入量	1 µL	
注入モード	スプリット (1:10)	
ライナ	Agilent ウルトライナートライナ (部品番号 5190-2295)	
カラム	Agilent J&W DB-WAX ウルトライナート GC カラム、 20 m × 0.18 mm、0.18 µm (部品番号 121-7022UI)	Agilent J&W DB-5ms ウルトライナート GC カラム、 20 m × 0.18 mm、0.18 µm (部品番号 121-5522UI)
カラム流量	定流量：1 mL/min (未使用時は 0.5 mL/min)	
オープンプログラム	50 °C で 0.5 分保持、7 °C/min で 200 °C まで昇温、 25 °C/min で 240 °C まで昇温、240 °C で 10 分保持	
MSトランスファーライン	240 °C	
イオン源温度	250 °C	
四重極温度	150 °C	
取り込みモード	MRM/スキャン (MS2)	

表 2. Agilent 7000E GC/TQ でのアレルゲン分析のための GC/TQ マルチプルリアクションモニタリング (MRM) トランジション
(次ページに続く)

化合物番号	化合物名	CAS 登録番号	トランジション 1 (m/z)	トランジション 2 (m/z)	トランジション 3 (m/z)
1	ビネン <α>	80-56-8	121.0 -> 77.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.0
2	ビネン <β>	127-91-3	121.0 -> 93.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.0
3	テルビネン <α>	99-86-5	121.0 -> 93.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.0
4	リモネン	138-86-3	136.0 -> 94.0	68.0 -> 67.0	93.0 -> 77.0
5	テルピノレン	586-62-9	121.0 -> 93.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.0
6	樟腦	76-22-2	152.0 -> 108.0	108.0 -> 93.1	95.0 -> 67.0
7	ベンズアルデヒド	100-52-7	106.0 -> 105.0	105.0 -> 77.0	77.0 -> 51.0
8	リナロール	78-70-6	121.0 -> 93.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.1
9	酢酸リナリル	115-95-7	121.0 -> 93.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.1
10	カリオフィレン <(B)>	87-44-5	189.0 -> 91.1	133.0 -> 105.1	93.0 -> 77.0
11	メントール	89-78-1	123.0 -> 81.0	95.0 -> 67.0	138.0 -> 95.0
12	オクト-2-イノアート <メチル> (フィリオン)	111-12-6	123.0 -> 67.0	95.0 -> 67.0	139.0 -> 77.0
13	サリチルアルデヒド	90-02-8	122.0 -> 121.0	121.0 -> 65.0	93.0 -> 65.0
14	テルピネオール <α>	98-55-5	121.0 -> 93.0	93.0 -> 77.0	136.0 -> 93.0
15-1	ネラール	106-26-3	109.0 -> 81.0	69.0 -> 41.1	134.0 -> 119.0
15-2	ゲラニール	141-27-5	137.0 -> 43.0	84.0 -> 83.0	152.0 -> 137.0
16	カルボン	99-49-0	108.0 -> 93.0	82.0 -> 39.1	150.0 -> 108.0
17	酢酸ゲラニル	105-87-3	121.0 -> 76.9	93.0 -> 77.0	136.0 -> 121.0
18	ダマスコン <δ>	57378-68-4	123.0 -> 81.0	69.0 -> 41.1	192.0 -> 135.0
19	サリチル酸 <メチル>	119-36-8	152.0 -> 92.0	120.0 -> 92.0	92.0 -> 63.0
20	酢酸 DMBC (ジメチルベンジルカルビニル)	151-05-3	117.0 -> 91.0	132.0 -> 117.0	91.0 -> 65.0
21	ダマスコン <α-, trans>	43052-87-5	123.0 -> 81.0	69.0 -> 41.1	192.0 -> 135.0
22	シトロネロール	106-22-9	81.0 -> 53.1	81.0 -> 41.1	138.0 -> 95.0
23	ダマスコン <(E)-β>	23726-91-2	123.0 -> 81.0	192.0 -> 177.1	177.0 -> 77.0
24	ダマセノン <(E)-, β>	23696-85-7	121.0 -> 77.0	69.0 -> 41.1	190.1 -> 121.0
25	アネトール <(E)>	104-46-1	117.0 -> 91.0	147.0 -> 91.0	148.0 -> 77.0
26	イオノン <α-, イソメチル>	127-51-5	135.0 -> 91.0	107.0 -> 91.0	150.0 -> 135.0
27	ゲラニオール	106-24-1	123.0 -> 43.1	93.0 -> 77.0	123.0 -> 77.0
28	ベンジルアルコール	100-51-6	107.0 -> 79.0	108.0 -> 79.0	79.0 -> 77.0
29-1	エバノール 1	67801-20-1	149.0 -> 107.1	121.0 -> 77.0	164.0 -> 149.1
29-2	エバノール 2	67801-20-1	149.0 -> 107.0	121.0 -> 77.0	164.0 -> 149.1
30	ヒドロキシシトロネラール	107-75-5	111.0 -> 69.0	95.0 -> 67.0	139.0 -> 43.0
31	シンナムアルデヒド <(E)>	104-55-2	103.0 -> 77.0	131.0 -> 77.0	132.0 -> 131.0
32	ブチルフェニルメチルプロピオナール (リリアール)	80-54-6	147.0 -> 117.0	189.0 -> 91.0	204.0 -> 189.0
33-1	イソ E スーパー <β>	54464-57-2	119.0 -> 91.0	191.0 -> 109.1	121.0 -> 93.0
33-2	イソ E スーパー <α>	68155-66-8	135.0 -> 107.0	69.0 -> 41.1	191.0 -> 121.1
34	サリチル酸 <アミル>	2050-08-0	138.0 -> 92.0	120.0 -> 92.0	208.0 -> 120.0
33-3	イソ E スーパー <γ>	68155-67-9	150.0 -> 135.0	135.0 -> 107.0	191.0 -> 121.1
35	トリメチル-ベンゼンプロパノール (マジヤントール)	103694-68-4	105.0 -> 77.0	106.0 -> 91.0	178.0 -> 106.0
36	オイゲノール	97-53-0	131.0 -> 77.0	164.0 -> 77.0	149.0 -> 77.0
37	ヴィルトフィクスール	32388-55-9	203.0 -> 43.1	231.0 -> 43.1	246.0 -> 43.1
38	シンナムアルデヒド <アミル>	122-40-7	133.0 -> 55.0	129.0 -> 128.0	201.0 -> 145.0
39	酢酸オイゲニル	93-28-7	131.0 -> 77.0	164.0 -> 77.0	149.0 -> 77.0
40	アニシルアルコール <パラ>	105-13-5	137.0 -> 77.0	109.0 -> 77.0	138.0 -> 77.0
41	シンナミルアルコール <(E)>	104-54-1	92.0 -> 39.1	92.0 -> 91.0	115.0 -> 89.0

表 2. Agilent 7000E GC/TQ でのアレルゲン分析のための GC/TQ マルチプルリアクションモニタリング (MRM) トランジション (前ページからの続き)

化合物番号	化合物名	CAS 登録番号	トランジション 1 (m/z)	トランジション 2 (m/z)	トランジション 3 (m/z)
42-1	ガラクソリド 1	1222-05-5	213.0 -> 171.0	243.0 -> 213.1	258.0 -> 243.1
42-2	ガラクソリド 2	1222-05-5	213.0 -> 171.0	243.0 -> 213.1	258.0 -> 243.1
43-1	α -サンタロール	115-71-9	122.0 -> 94.0	94.0 -> 79.0	93.0 -> 77.0
43-2	β -サンタロール	77-42-9	122.0 -> 94.0	94.0 -> 79.0	93.0 -> 77.0
44	ファルネソール	4602-84-0	133.0 -> 105.0	69.0 -> 41.1	93.0 -> 77.0
45	イソオイゲノール	97-54-1	131.0 -> 77.0	164.0 -> 77.0	149.0 -> 77.0
46	シンナムアルデヒド < α -ヘキシル> (ジャスモナル)	101-86-0	117.0 -> 91.0	129.0 -> 128.0	216.0 -> 129.0
47	ヘキサデカノラクト-16-オン	109-29-5	193.0 -> 81.1	97.0 -> 55.0	236.0 -> 80.9
48	フタリド <3-プロピリデン> cis および trans	17369-59-4	159.0 -> 131.0	159.0 -> 103.0	146.0 -> 105.0
49	酢酸イソオイゲニル	93-29-8	149.0 -> 77.0	164.0 -> 77.0	165.0 -> 77.9
50	クマリン	91-64-5	118.0 -> 89.0	146.0 -> 118.0	90.0 -> 89.0
51-1	リラル 1	31906-04-4	136.0 -> 79.0	93.0 -> 77.0	192.0 -> 91.0
51-2	リラル 2	31906-04-4	136.0 -> 79.0	93.0 -> 77.0	192.0 -> 91.0
52	アミルシンナミルアルコール	101-85-9	133.0 -> 115.0	133.0 -> 55.0	133.0 -> 77.0
53	バニリン	121-33-5	123.0 -> 52.0	152.0 -> 151.0	151.0 -> 52.0
54	安息香酸ベンジル	120-51-4	194.0 -> 165.0	105.0 -> 77.0	212.0 -> 105.0
55	サリチル酸ベンジル	118-58-1	228.0 -> 91.0	91.0 -> 65.0	228.0 -> 65.0
56	スクラレオール	515-03-7	191.1 -> 94.9	177.0 -> 121.1	257.1 -> 119.2
57	ケイ皮酸 <ベンジル>	103-41-3	192.0 -> 191.0	131.0 -> 77.0	237.8 -> 192.0

結果と考察

以前の研究では、GC/MSD の選択イオンモニタリング (SIM) モードによる、57 種類の存在が疑われるアレルゲンの分析が実証されています。³ GC/MSD を SIM モードで使用する場合、すべてのターゲットピークが適切に分離されて、定量に使用される SIM イオンの干渉が発生しないように、メソッド開発時に注意する必要があります。ターゲット化合物が多数含まれている複雑なマトリックスの場合、GC/MSD を使用して十分なクロマトグラフィー分離能を得ることは困難です。しかし、このような複雑な分析をトリプル四重極 GC/MS (GC/TQ) に移行することにより、選択性を大幅に向上させることができます。

GC/TQ 機器には、データ取り込みのためのマルチプルリアクションモニタリング (MRM) モードが備えられています。MRM モードは、衝突誘起解離 (CID) から生じるイオンを測定するために使用されます。CID リアクションの性質は、質量だけではなく分子構造にも依存しており、選択性を大幅に向上させることができます。MRM/スキャンモードでは、データを同時に取り込むことができるため、ターゲットを正確に分析できるだけでなく、フルスキャンを使用してサンプルを詳細に特性解析することもできます。

Agilent MassHunter Optimizer ソフトウェアを使用することにより、GC/MSD メソッドから GC/TQ メソッドへ迅速かつ容易に移行できます。GC/MSD メソッドですでに提供されている SIM イオンを、MassHunter Optimizer で GC/TQ のプリカーサイオンとして設定してから、GC/TQ メソッドのすべてのターゲット化合物に最適な MRM トランジションを決定するために、自動的に実行するようにソフトウェアを設定できます。GC メソッドパラメータと GC/MS イオン源パラメータはすべて、両方の機器メソッドで同じにしておくことができます。

MassHunter Optimizer ソフトウェアで最適化したメソッドを使用して、2 種類の Agilent J&W GC カラムで 57 種類のアレルゲンを分離した結果を図 2 に示します。すべてのターゲット化合物に対して適切な分離が達成されており、7000E GC/TQ システムで選択性が向上していることが実証されました。代表的な 6 つの検量線と 1 mg/kg アレルゲン標準の分析結果を図 3 に示します。検量線は、濃度 1 ~ 100 mg/kg の範囲のアレルゲン標準からのレスポンスをプロットしたものです。検量線は、原点を無視した 2 次曲線であり、1/x の重み付けを使用しています。すべての決定係数 (R^2) が 0.997 を超えていることは、両方の J&W GC カラムにおいて、今回の GC/TQ メソッドの定量的信頼性が高いことを示しています。

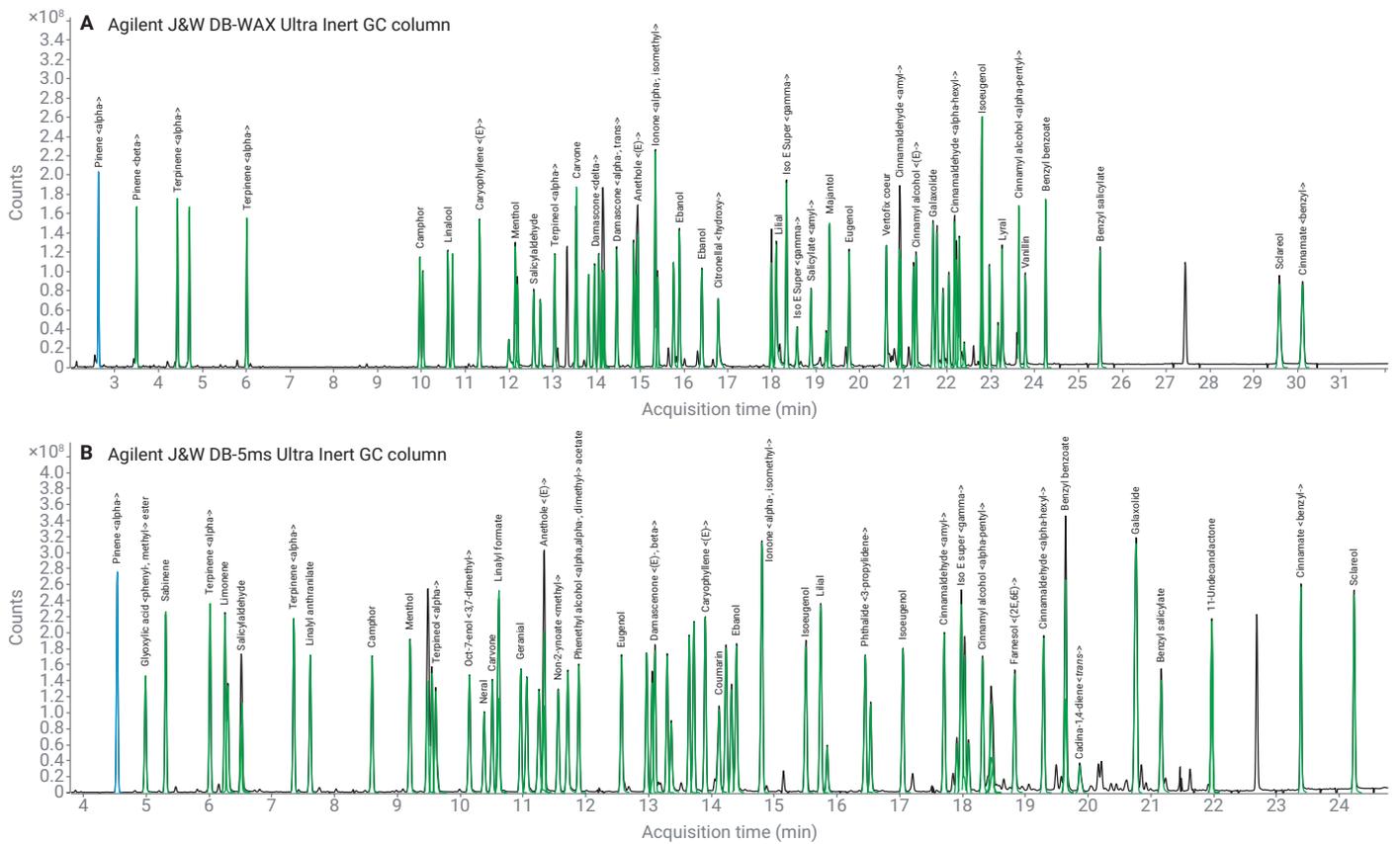


図 2. 2 種類の Agilent J&W GC カラム ((A) 極性カラム、(B) 非極性カラム) での 100 mg/kg アレルゲン標準のクロマトグラフィーによる分離

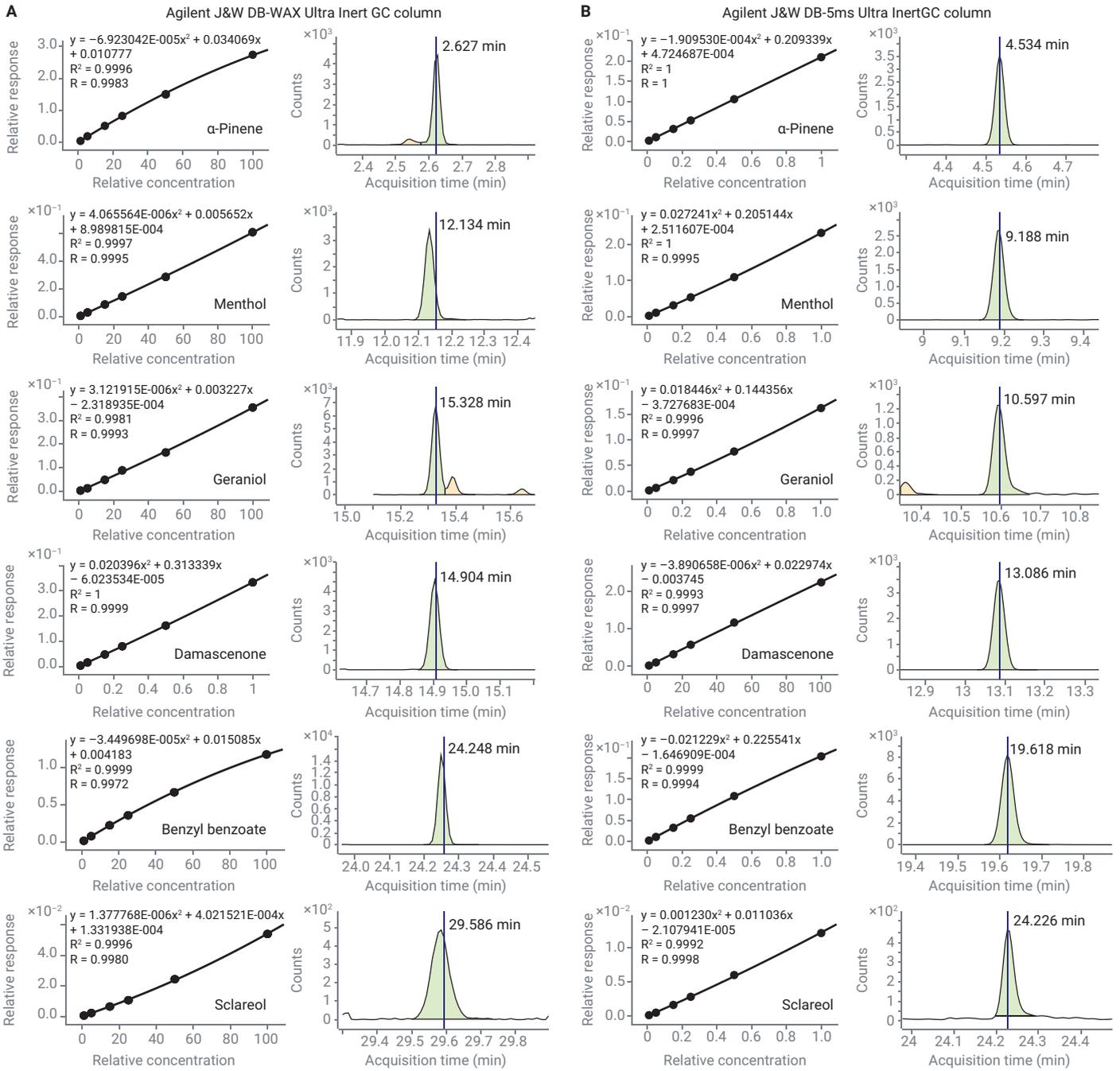


図 3. Agilent 7000E GC/TQ による検出における、2 種類の Agilent J&W GC カラムでの 6 種類のアレルゲンの検量線と 1 mg/kg 標準クロマトグラムの例

結論

確立されている GC/MSD ベースのアレルゲン分析から GC/TQ へは迅速かつ容易に移行することができ、これによりメソッドの選択性が向上します。新しい GC/TQ メソッドでは、同じクロマトグラフィーおよび MS イオン源メソッドパラメータ、カラム、消耗品を使用することができます。新しい MS 取り込みメソッドでは、Agilent MassHunter Optimizer ソフトウェアを自動化して、元の GC/MSD メソッドからの SIM イオンを使用することにより、GC/TQ メソッドに最適な MRM トランジションを決定することができます。その結果、GC/TQ メソッドの選択性が向上して、データの信頼性が高まり、共溶出するターゲットアレルゲンの偽陽性および偽陰性のリスクが低減しました。本研究の新しい GC/TQ メソッドでは、Agilent 8890 GC と Agilent 7000E GC/TQ を使用することにより、化粧品中の 57 種類のアレルゲン芳香物質とその関連異性体の分析において、信頼性の高い定量が実施できます。

参考文献

1. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on Cosmetic Products. Official Journal of the European Union, **2009**.
2. Modernization of Cosmetics Regulation Act of 2022 (MoCRA). U.S. Food and Drug Administration, **2023**.
3. Analytical Method to Quantify 57 Suspected Allergens (and isomers) in Ready to Inject Fragrance Materials by Gas Chromatography and Mass Spectrometry. The International Fragrance Association, Analytical Working Group, **2016**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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。

DE01330524

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, October 7, 2024

5994-7523JAJP