

代替キャリアガスによる FAME 分析

著者

高桑 裕史

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

Agilent 8890 ガスクロマトグラフ (GC) を使用し、ヘリウム、水素および窒素の 3 種のキャリアガスを用いて脂肪酸メチルエステル (FAME) の測定を行いました。いずれのキャリアガスにおいても FAME 37 成分のすべてのピークを分離することができ、メチルエステル化した大豆油およびいわし油においても同様な定量値 (面積 %) を得ることができました。また、水素キャリアガスによる測定ではヘリウムキャリアガスによる測定時間より 3 割から 5 割ほど時間を短縮することができました。また、窒素キャリアガスを用いると測定時間は 1.4 倍となりましたが、実用的な測定条件を開発できました。

1. はじめに

脂肪酸組成分析には GC 測定が用いられていますが、基準油脂分析試験法ではキャリアガスとしてヘリウムが指定されています。しかし、昨今のヘリウムの供給不足や価格高騰から水素や窒素などの代替キャリアガスによる GC 測定の需要が増えています。そこで、脂肪酸組成分析に代替キャリアガスを用いた測定を行い、ヘリウムキャリアガスによる測定との比較を行いました。

2. 実験

Agilent 8890 GC を使用してヘリウム、水素および窒素キャリアガスの 3 種を用いて脂肪酸メチルエステル (FAME) の測定を行いました。試料は FAME 37 成分の標準液 (メルク社製、製品番号: CRM47885)、基準油脂試験法に基づいてメチルエステル化した大豆油およびいわし油試料を用い、下記の項目について比較・検討を行いました。

- 各キャリアガスの測定による FAME 37 成分の分離度
- 各キャリアガスの測定による測定時間
- 各キャリアガスの測定による FAME 37 標準液および実試料の定量値 (面積 %)

ヘリウムキャリアガスおよび水素キャリアガスによる測定では高分離カラムである 60 m の DB-23 を使用しました。窒素キャリアガスによる測定では、分離度を維持するためにカラムの平均線速度を低くする必要があります。そのため、FAME の高速分析用カラムである DB-FastFAME を用いて分析時間が過度に長ならないようにしました。さらに、水素キャリアガスによる DB-FastFAME カラムを用いた測定も行いました。詳細な測定条件を以下に示します。

測定条件 1. ヘリウムキャリアガスによる測定

注入	1 μ L、スプリット 100:1
注入口ライナ	ウルトライナート、シングルテーパー低圧力損失、ウール入り (p/n 5190-2295)
注入口温度	250 $^{\circ}$ C
カラム流量	ヘリウム、2 mL/min (初期流量、コンスタントプレッシャー 33 psi)
カラム	DB-23 60 m, 0.25 mm, 0.15 μ m (p/n 122-2361)
GC オープン	50 $^{\circ}$ C (1 min) - 25 $^{\circ}$ C/min - 175 $^{\circ}$ C - 4 $^{\circ}$ C/min - 230 $^{\circ}$ C (5 min)
FID	250 $^{\circ}$ C、水素: 30 mL/min、空気: 400 mL/min、メークアップ (窒素): 20 mL/min

測定条件 2. 水素キャリアガスによる測定 1

注入	1 μ L、スプリット 100:1
注入口ライナ	ウルトライナート、シングルテーパー低圧力損失、ウール入り (p/n 5190-2295)
注入口温度	250 $^{\circ}$ C
カラム流量	水素、2.59 mL/min (初期流量、コンスタントプレッシャー 22.5 psi)
カラム	DB-23 60 m, 0.25 mm, 0.15 μ m (p/n 122-2361)
GC オープン	50 $^{\circ}$ C (0.6 min) - 40 $^{\circ}$ C/min - 175 $^{\circ}$ C - 6 $^{\circ}$ C/min - 230 $^{\circ}$ C (3 min)
FID	250 $^{\circ}$ C、水素: 30 mL/min、空気: 400 mL/min、メークアップ (窒素): 20 mL/min

測定条件 3. 窒素キャリアガスによる測定

注入	1 μ L、スプリット 100:1
注入口ライナ	ウルトライナート、シングルテーパー低圧力損失、ウール入り (p/n 5190-2295)
注入口温度	250 $^{\circ}$ C
カラム流量	窒素、0.3 mL/min (コンスタントフロー)
カラム	DB-FastFAME 30 m, 0.25 mm, 0.25 μ m (p/n G3903-63011)
GC オープン	50 $^{\circ}$ C (1 min) - 16 $^{\circ}$ C/min - 175 $^{\circ}$ C - 6 $^{\circ}$ C/min - 210 $^{\circ}$ C - 3 $^{\circ}$ C/min - 255 $^{\circ}$ C (5 min)
FID	250 $^{\circ}$ C、水素: 30 mL/min、空気: 400 mL/min、メークアップ (窒素): 20 mL/min

測定条件 4. 水素キャリアガスによる測定 2

注入	1 μ L、スプリット 100:1
注入口ライナ	ウルトライナート、シングルテーパー低圧力損失、ウール入り (p/n 5190-2295)
注入口温度	250 $^{\circ}$ C
カラム流量	水素、1.2 mL/min (コンスタントフロー)
カラム	DB-FastFAME 30 m, 0.25 mm, 0.25 μ m (p/n G3903-63011)
GC オープン	50 $^{\circ}$ C (0.5 min) - 60 $^{\circ}$ C/min - 175 $^{\circ}$ C - 20 $^{\circ}$ C/min - 210 $^{\circ}$ C - 10 $^{\circ}$ C/min - 255 $^{\circ}$ C (2 min)
FID	250 $^{\circ}$ C、水素: 30 mL/min、空気: 400 mL/min、メークアップ (窒素): 20 mL/min

3. 結果

FAME 37 成分標準液の測定結果

図 1 に FAME 37 成分の標準液を 4 つの測定条件によって得られたクロマトグラムを示します。すべての測定条件で FAME 37 成分を分離することができました。表 1 に分離度を示しますが、DB-23 カラムを用いた測定ではすべてのピークで分離度 1.5 以上が得られました。窒素キャリアガスおよび水素キャリアガスによる DB-FastFAME カラムを用いた分析では、すべてのピークで分離度 1.0 以上が得られ、C22:2 と C23:0、C24:1 と C22:6 の 2 か所以外では分離度 1.5 以上が得られました。水素キャリアガスによる測定ではヘリウムキャリアガスによる測定時間 (24.8 分) よりも短縮することができました。DB-23 カラムを用いた測定では 15.9 分となり 1.5 倍の高速化、DB-FastFAME カラムを用いた分析では 10.8 分となり 2.3 倍の高速化ができました。一方、窒素キャリアガスによる測定時間は 34.6 分となり、ヘリウムキャリアガスよりも長くなりましたが、実用的な測定時間を達成することができました。

表 1. 各測定条件におけるピーク分離度

測定条件 1	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C11:0	C12:0	C13:0	C14:0	C14:1	C15:0	
1	He		41.2	42.4	37.7	18.1	18.1	18.7	19.7	9.5	11.3
2	H ₂		34.6	38.1	34.9	16.7	16.9	17.5	18.6	9	10.8
3	N ₂		28	31	30.8	15.4	15.6	15.9	16.1	7.4	8.9
4	H ₂		23.2	24.3	23.8	12.3	12.7	13	13.5	6.4	7.6

測定条件 2	C15:1	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1n9t	C18:1n9c	C18:2n6t	C18:2n6c	
1	He	10.5	11.6	8.1	14.4	8.7	14.6	4.2	3	5.7	7.1
2	H ₂	9.9	11	7.8	14.1	8.6	14.2	4.2	2.9	5.5	7.2
3	N ₂	7.9	8.9	6.2	11	6.6	10.8	3.2	2.3	3.8	5.4
4	H ₂	6.8	7.8	5.4	9.3	5.7	9.6	2.9	1.9	3.4	4.9

測定条件 3	C18:3n6	C18:3n3	C20:0	C20:1n9	C20:2	C21:0	C20:3n6	C20:4n6	C20:3n3	C22:0	
1	He	7.8	7.8	11.4	7.5	13.3	2.8	5.1	5.2	2.8	9.8
2	H ₂	7.9	7.8	11.1	7.1	12.8	2.7	5.2	5.1	2.8	9.8
3	N ₂	5.6	5.6	8.6	5.7	9.6	1.9	3.9	3.7	1.9	7.3
4	H ₂	5.1	5.1	7.8	5.2	8.9	1.8	3.5	3.4	1.8	7

測定条件 4	C20:5	C22:1	C22:2	C23:0	C24:0	C24:1	C22:6	
1	He	2.9	4.6	13.4	1.8	22.3	7.8	2.6
2	H ₂	3	4.4	13.2	1.8	22	7.7	2.6
3	N ₂	2.1	3.6	9.6	1.2	16.7	6	1.6
4	H ₂	1.8	3.5	8.9	1.1	15.3	5.5	1.2

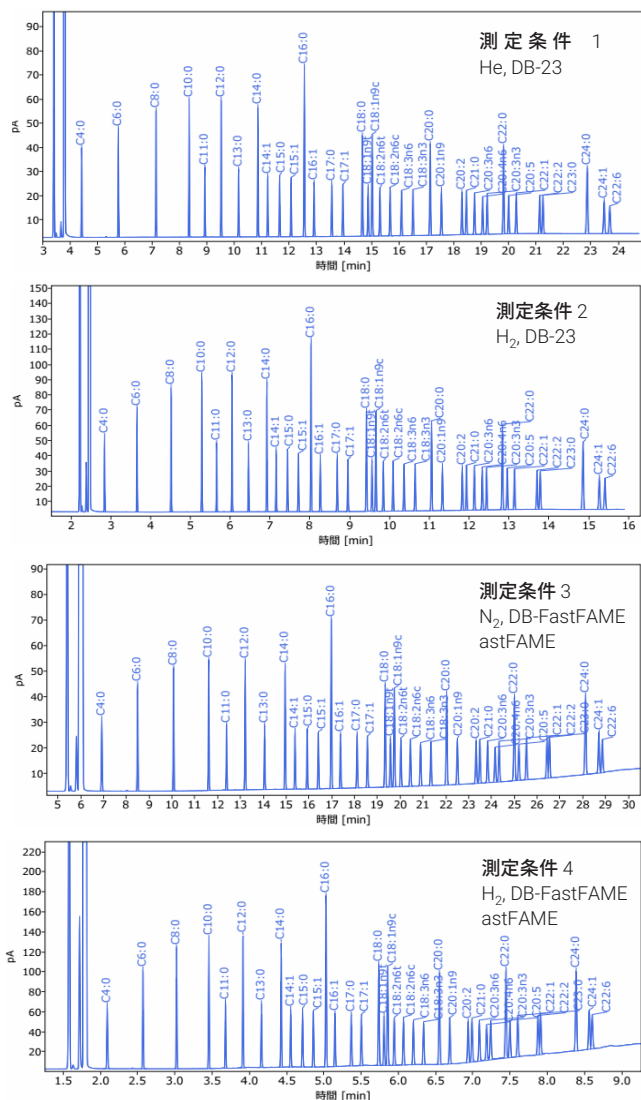


図 1. 各測定条件による FAME 37 成分標準液のクロマトグラム

図 2 に各測定条件による FAME 37 成分の定量値 (面積 %) を示しますが、各測定条件の間に有意な差はなく、すべての測定条件で同様な値が得られました。

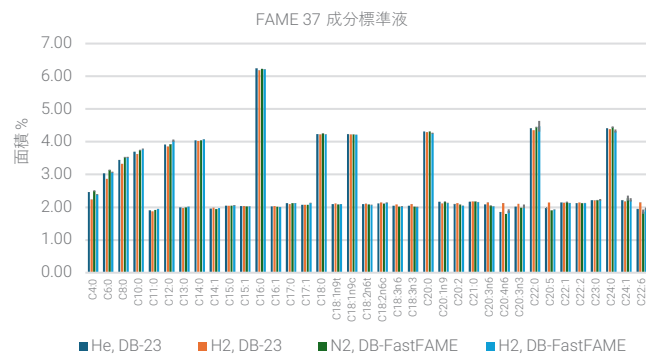


図 2. 各測定条件による FAME 37 成分の定量値 (面積 %, n=2 の平均値)

大豆油およびいわし油の測定結果

図 3, 5 に大豆油およびいわし油を 4 つの測定条件を用いて分析したクロマトグラムを示します。すべての測定条件で同様なピーク分離を得ることができました。また、図 4, 6 に大豆油およびいわし油の定量値 (面積 %) を示しますが、実試料においても各測定条件の間に有意な差はなく、すべての測定条件で同様な値が得られました。

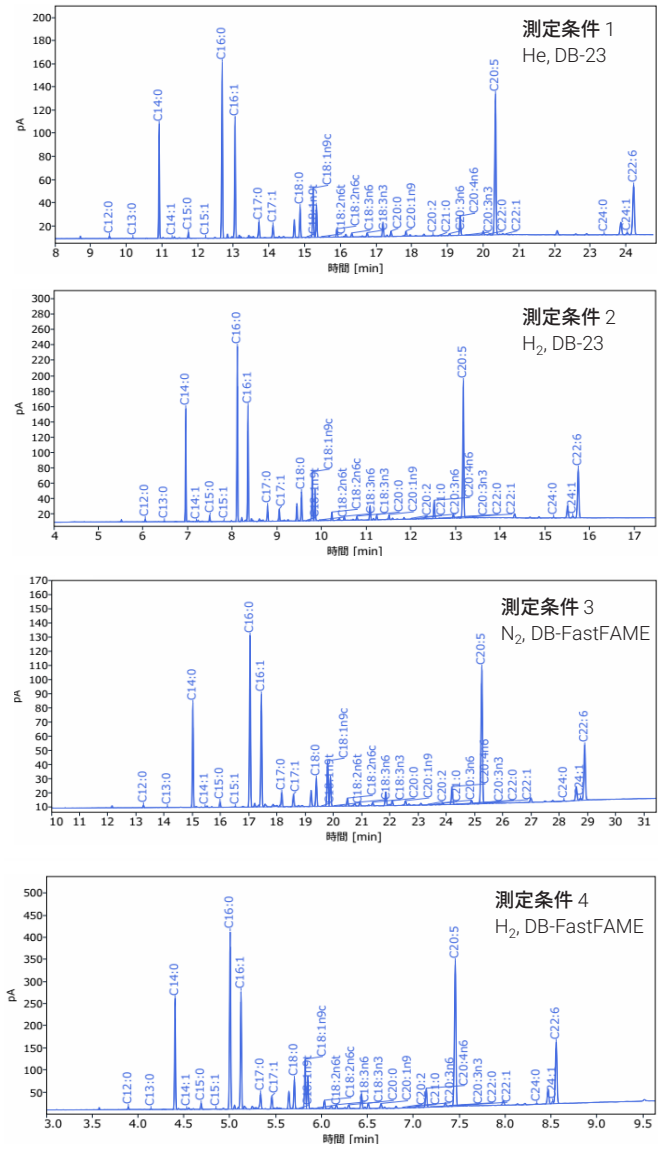
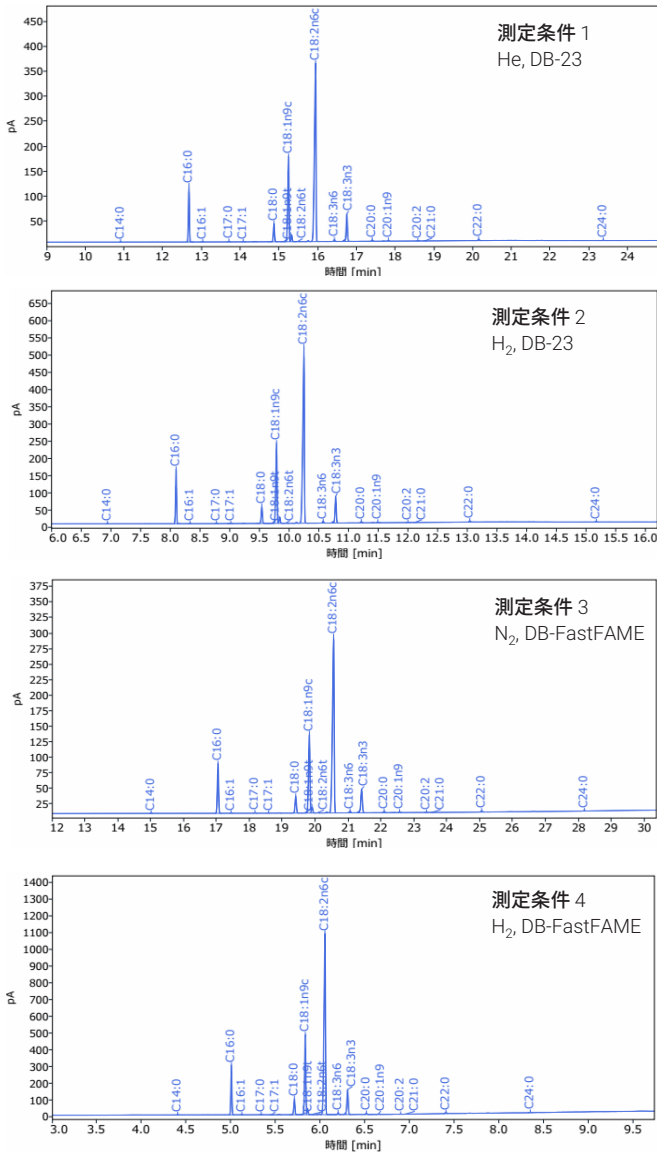


図 3. 各測定条件による大豆油のクロマトグラム

図 5. 各測定条件によるいわし油のクロマトグラム

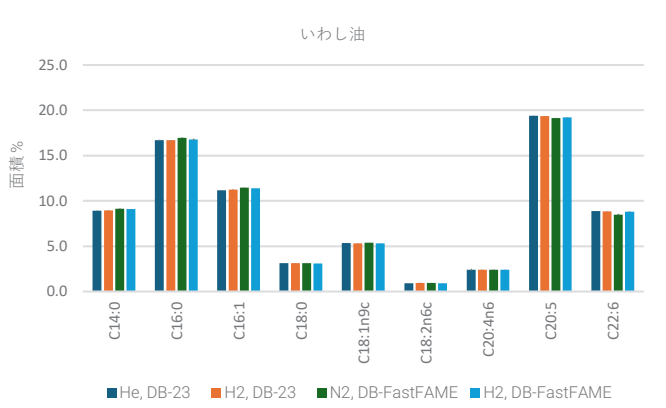
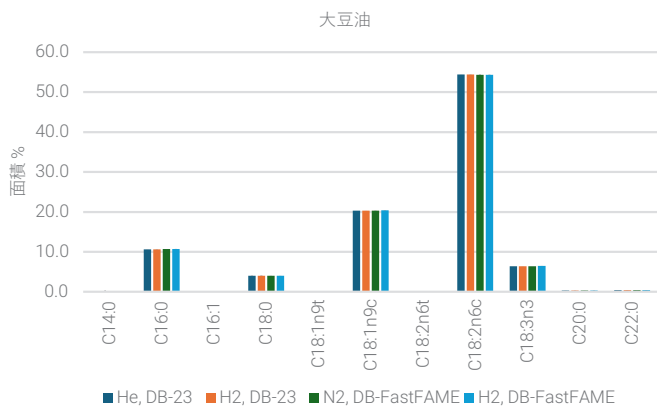


図 4. 各測定条件による大豆油の定量値 (面積 %, n=2 の平均値)

図 6. 各測定条件によるいわし油の定量値 (面積 %, n=2 の平均値)

結論

8890 GC で代替キャリアガスを用いた FAME 分析が、ヘリウムキャリアガスと同様に行うことができることが示されました。すべての測定条件において FAME 37 成分のすべてのピーク分離ができ、標準液および実資料である大豆油およびいわし油の定量値も同様な値を得ることができました。なお、水素キャリアガスを用いれば、ヘリウムキャリアガスに比較して測定時間を短縮できることも確認できました。窒素キャリアガスによる測定は 34.6 分と長くなりましたが、実用的な測定条件を開発できました。

謝辞

アプリケーションノート作成にあたり、福島大学の吉永和明様のご協力をいただきましたので、ここに記して感謝の意を表します。

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。

DE-002144

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2024

Printed in Japan, October 30, 2024

5994-7913JAJP