

Agilent 8850 GC システムと キャリアガス切替スイッチによる バニラ抽出物分析のためのメソッド変換

著者

Jessica Kovach
Agilent Technologies, Inc.

概要

世界中の香料メーカーでは、香料・香水の原料成分を分析し理解することが、品質管理（QC）ラボと研究開発（R&D）ラボの両方で仕事の中心となっています。このアプリケーションノートでは、Agilent 8850 シングルチャンネル GC の性能に焦点を当て、香料の詳細な分離のために R&D ラボで使用される一般的な GC 分析および QC 分析における導入の成功事例を紹介しします。アジレントのメソッドトランスレータソフトウェアは、R&D や QC などのラボの間でクロマトグラフィーメソッドを簡単に変換するためのツールを提供します。¹ 比較的長時間（50 分）の R&D メソッドからより短時間（5 分未満）の QC メソッドへの変換を、キャリアガスにヘリウムと水素の両方を使用して実証します。単一のシーケンスで 2 種類のキャリアガスを評価するにあたり高いサンプルスループットを得るために、ヘリウム使用低減用のモジュールをキャリアガス切り替えスイッチとして使用しました。効率はヘリウムで 10 倍、水素では 14 倍と向上しましたが、クロマトグラフィーの分離特性やメソッドの精度と直線性は損なわれませんでした。最後に、水素キャリアガスを用いた高速メソッドを適用して、市場で人気の 3 製品（バニラ抽出物 2 種類とバニラ香料 1 種類）を分析しました。複雑なマトリックスを持つ市場製品に適用された高速メソッドは、分離の効率性を示すと同時に、期待された性能基準を満たしました。

はじめに

消費者は、購入する製品を決める際、日常的に香料や香料の魅力の影響を受けています。消費者の栄養に対する意識は年々高まり、天然物と人工物（N&A）から製造された製品を遠ざけ、天然またはオーガニックに分類される原材料を受け入れる方向に進んでいます。バニラは、消費者の習慣の変化による大きな影響を受けている香料の 1 つです。世界で最も売れているフレーバーに数えられ、市場に出回る製品の大半に含まれています。² 近年のバニラビーンズに対する需給の圧力により、食品店の棚に並ぶ製品あるいは天然バニラ香料やフレグランスに使われる高品質のバニラ抽出物を生産することは困難で、コストのかかるものとなっています。このような状況では、バニラ・エキスに不純物を加えて天然素材の供給量を偽る事例が発生しかねません。一般に監視されているバニラ混和物には、クマリン、エチルバニリン、オイゲノール、グアヤコールがあります。^{2,3}

偽和物混入は米国食品医薬品局が定めたバニラ抽出物の同一性基準に影響を与えます。そこで、香料メーカーは、原料サプライヤから購入した原材料が現在製造中の香料の配合成分に加えられる前に、入荷する生の原料をふるい分けて、期待どおりの純度基準を確実に満たすための、信頼性が高く感度に優れた分析技術の導入を QC ラボに任せます。一般的には、R&D ラボで使用されている GC ベースのメソッドを採用していますが、カラムの長さや直径、液相が異なるため、R&D 部門と QC 部門の間でのメソッド統一が困難となる場合があります。

アジレントのメソッドトランスレータソフトウェアは GC メソッドの統一に有益なツールで、特にラボごとに使用されている GC カラムが異なる場合には便利です。このソフトウェアは各 GC システムに付属しており、ダウンロードも可能です。¹ このツールを用いて、そのまま変換することも、変換される 2 組のカラム寸法における最高の効率を考慮して変換することもできるほか、分析時間を短縮するための変換オプションもあります。

このアプリケーションノートでは、分析時間を要す R&D 用のメソッドから、高いサンプルスループットとよりシンプルな定量のニーズに適した、高速で効率的な QC 用へのメソッド変換を実証します。ヘリウムキャリアガスと水素キャリアガスを用いた 2 種類のメソッド変換を実証します。どちらのキャリアガスでも、変換されるメソッドは同じです。分析標準の精度と直線性、多様なバニラ抽出物への適応性を通じて変換の成功を検証します。

実験手法

材料および試薬

バニラ抽出物またはバニラ香料に存在する、もしくはバニラ抽出物中で混和物として検出されたことを基準に、バニラ属性を持つ 5 種類の化学物質を購入しました。これらの標準は、バニリン (≥ 97 %、FCC、FG)、エチルバニリン (≥ 98 %、FCC、FG)、グアヤコール (≥ 99 %、FG)、オイゲノール (≥ 99 %、FG)、クマリン結晶で、すべて Sigma-Aldrich (米国ミズーリ州セントルイス) で入手しました。同じく Sigma-Aldrich から入手した無水デカン (≥ 99 %) を内部標準として、200 プルーフ無水エタノール (≥ 99.5 %) をバニラ抽出物の調製済み標準および希釈液の溶媒として使用しました。

変換後のメソッドが、必要最小限のサンプル処理で済む一般的な市場製品に適用するため、市販のブランドのバニラ抽出物 3 種類 (純粋なバニラ抽出物、オーガニックバニラ抽出物、人工的に香り付けしたバニラ香料) をオンラインショップで購入しました。

水素キャリアガスとして、99.9999 % 純度仕様の社内の水素を使用し、また同様の仕様を持つ社内のヘリウムをヘリウム用メソッドで使用されるキャリアガスとして使用しました。

再現性試験は、各成分を 100 ppm と、内部標準としてデカン 100 ppm を含む多成分標準を用いて実施しました。実験の後半では、10 倍に希釈した市場製品でも、バニラ抽出物に関する精度は保たれていました。

直線性試験は、10 ~ 100,000 ppm (10 % v/v) の範囲で 10 倍ずつ増やしなが実施しました。100,000 ppm の標準については、5 種類の成分それぞれをエタノールで個別に調製しました。10、100、1,000、および 10,000 ppm の標準はエタノールで連続的に調製しました。各標準には、成分と同じ濃度のデカンも入れました。

市販のバニラ抽出物サンプルに含まれる成分の定量には、100 ~ 5,000 ppm の有効なキャリブレーション範囲を作成しました。500 および 5,000 ppm の多成分標準は、メソッドの直線性実験で使用した事前調製済みの 1,000 および 10,000 ppm 溶液をもとに調整しました。一定量の 100 および 1,000 ppm 溶液は、事前調製済みのメソッド直線性サンプルから直接バイアルに入れました。

機器とメソッド

この実験はすべて、スプリット/スプリットレス (S/SL) 注入口、ヘリウム使用を低減するためのヘリウム切り替えスイッチモジュール (図 1)、および水素炎イオン化検出器 (FID) を備えた Agilent 8850 GC システムで行いました。ヘリウム使用を低減するためのヘリウム切り替えスイッチモジュールを使用することで、ユーザーは 2 種類のキャリアガスをモジュールのインプットに配管できます。これにより、シーケンステーブルにあるどのメソッドでも、キャリアとして S/SL 注入口に供給されるべきガスを指示することが可能です。



図 1. アジレントのヘリウム切り替えスイッチ。AUX チャンネルがヘリウムの代替キャリアガスとして水素または窒素に対応します。

ヘリウム切り替えスイッチの He チャンネルに社内ヘリウムを、同モジュールの AUX チャンネルに社内水素を配管しました (図 2)。アウトプットチャンネルは、S/SL ニューマティクスモジュールのキャリアガスチャンネルに直接配管しました。

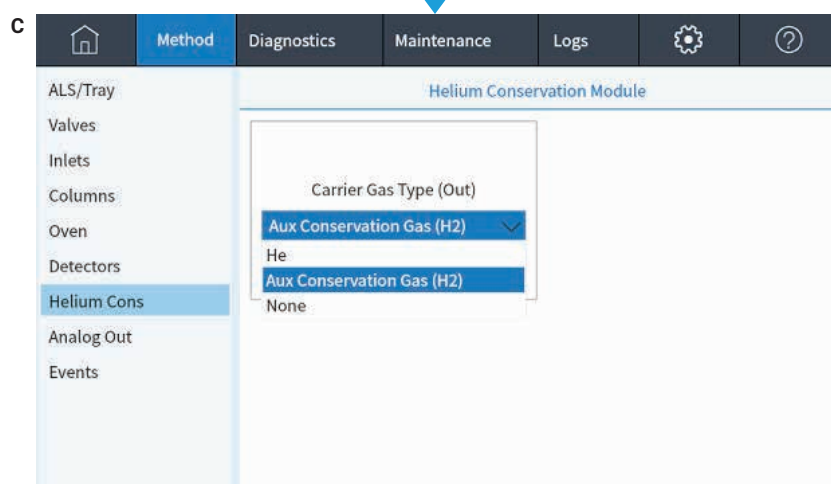
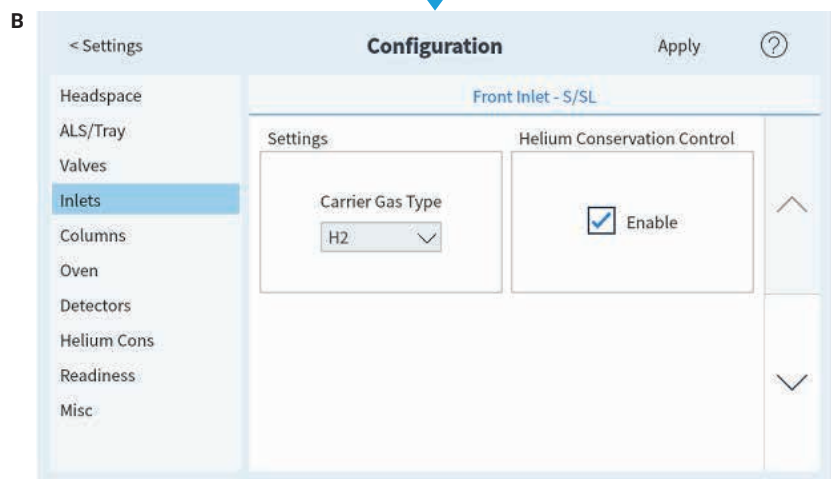
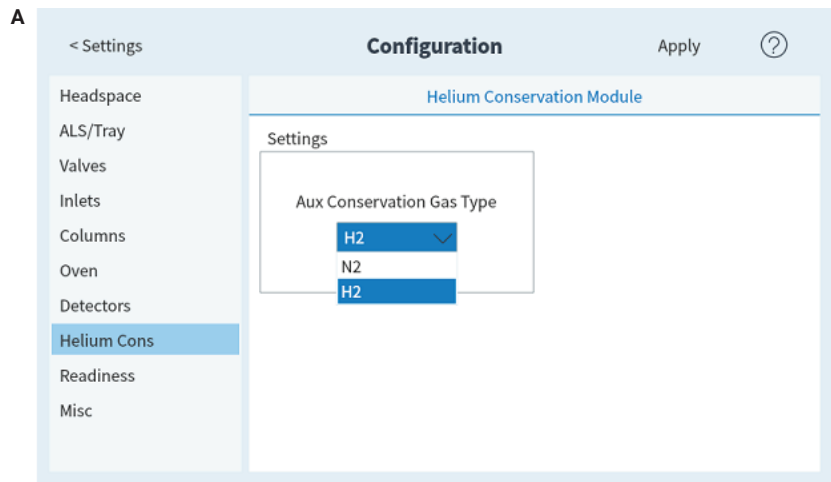


図 2. Agilent 8850 のローカルユーザインタフェースでは、ユーザーは、最適な AUX ガスを選択し (A)、モジュールで注入口を制御できるようにして (B)、特定の分析で注入口に供給するガスをメソッド内で選択する (C) ことで、ヘリウム切り替えスイッチを簡単に使用できます。

ヘリウム切り替えスイッチを2種類のキャリアガスとつなぐことで、代替キャリアガスが必要ときにガスの接続を手作業で設定・再設定する必要がなくなり、GCを簡単に使用できるようになるだけでなく、1つのシーケンスで2つのキャリアガスを活用できるようになります。このような利点により、柔軟性と高いサンプルスルーブットの両方が促進され、その結果、夜間や週末のGCシステムの使用が最適化されます。全体として、ヘリウム切り替えスイッチにより、ラボの日常業務の効率があがります。

カラムの選択

メソッド変換は、60 m × 0.25 μm、内径 (id) 320 μm の Agilent J&W DB-1 を出発点として実施しました。DB-1 相の 60 m カラムは、ガスクロマトグラフィーによる香料および香料の R&D 分析で使用される種類の一般的なカラムです。QC ラボでは、分析の速度と効率の点から、10 m、内径 100 μm のカラムが使用に適しているため、10 m × 内径 100 μm、0.1 μm 膜厚の J&W DB-1 を選択しました。メソッド変換を段階的に示すため、さらに2本の J&W DB-1 カラムを追加で選択し、相対を 10 m × 内径 100 μm カラムと同じに維持しました。追加したカラムの寸法は、20 m × 内径 180 μm、0.18 μm と、30 m × 内径 250 μm、0.25 μm でした。相対は 10、20、および 30 m カラムで一定に保たれ、249.25 でした。表 1 に、4本の DB-1 カラムでヘリウムキャリアガスと水素キャリアガスの両方を使用したときの測定条件の詳細を示します。図 3 はメソッドトランスレータの使用例で、オリジナルの 50 分メソッドから条件がどのように導出されるかを定義しています。

表 1. ヘリウムと水素キャリアガス両方のメソッド変換における条件

パラメータ	値	
GC システム	Agilent 8850 GC と 7693A オートサンプラ	
ALS	1 μL 注入	
	溶媒 A = イソオクタン、注入前洗浄 1 回、注入後洗浄 1 回 溶媒 B = イソオクタン、注入前洗浄 1 回、注入後洗浄 1 回、サンプル洗浄 1 回、サンプルポンプ 6 回 S/SL シリンジ：10 μL (p/n G4513-80203)	
スプリット/ スプリットレス 注入口	325 °C セプタムパージ：3 mL/min 1) 25:1 スプリット 2) 25:1 スプリット 3) 50:1 スプリット 4) 200:1 スプリット	
	- 注入口セプタ、高性能グリーン、ノンスティック (p/n 5190-3158) - 低圧力損失スプリットライナ (p/n 5183-4647) - GC キャピラリー用カラムナット (p/n 5181-8830) - カラム接続 - 6 mm、グラファイトフェラルツールを使用 (p/n G3440-30217)	
ヘリウム切り替え スイッチ	- S/SL EPC に配管されたアウトプットチャネル - AUX ガスとして社内の水素 (H ₂) ガスに配管されたチャネル - 社内のヘリウム (He) ガスに配管されたヘリウムチャネル	
カラム	1) Agilent J&W DB-1 60 m × 320 μm、0.25 μm (5° ケージ) (p/n 123-1062E) グラファイトフェラルツール 0.1 ~ 0.32 mm カラム (p/n 5080-8853) 2) Agilent J&W DB-1 30 m × 250 μm、0.25 μm (5° ケージ) (p/n 123-1032E) グラファイトフェラルツール 0.05 ~ 0.25 mm カラム (p/n 500-2114) 3) Agilent J&W DB-1 20 m × 180 μm、0.18 μm (5° ケージ) (p/n 123-1022E) グラファイトフェラルツール 0.05 ~ 0.25 mm カラム (p/n 500-2114) 4) Agilent J&W DB-1 10 m × 100 μm、0.10 μm (5° ケージ) (p/n 123-1012E) グラファイトフェラルツール 0.05 ~ 0.25 mm カラム (p/n 500-2114)	
	定流量 (HE)：	定流量 (H ₂)：
	1) 1 mL/min 2) 1 mL/min (最高効率の変換) 3) 0.72 mL/min 4) 0.4 mL/min	1) 1 mL/min 2) 1.25 mL/min (最高効率の変換) 3) 0.90 mL/min 4) 0.5 mL/min
オープン	He キャリアパラメータ： 1) 40 °C (0 分間保持)、5 °C/min で 280 °C まで (2 分間保持)、分析時間 = 50 min 2) 40 °C (0 分間保持)、12.556 °C/min で 280 °C まで (0.8 分間保持)、分析時間 = 19.91 min 3) 40 °C (0 分間保持)、21.136 °C/min で 280 °C まで (0.48 分間保持)、分析時間 = 11.84 min 4) 40 °C (0 分間保持)、51.36 °C/min で 280 °C まで (0.2 分間保持)、分析時間 = 4.87 min H₂ キャリアパラメータ： 1) 40 °C (0 分間保持)、5 °C/min で 280 °C まで (2 分間保持)、分析時間 = 50 min 2) 40 °C (0 分間保持)、14.756 °C/min で 280 °C まで (0.68 分間保持)、分析時間 = 16.94 min 3) 40 °C (0 分間保持)、27.109 °C/min で 280 °C まで (0.37 分間保持)、分析時間 = 9.22 min 4) 40 °C (0 分間保持)、69.974 °C/min で 280 °C まで (0.14 分間保持)、分析時間 = 3.57 min * オプション：分析後にベークアウトする代わりに分析中にカラムのベークアウトを行うため、280 °C になったあと 60 °C/min で 325 °C まで 2 回目の昇温を追加	
	オープン平衡化時間 = 1 分間 分析後ベークアウト = 325 °C で 2 分間 (* カラムベークアウトではオプション)	
FID	300 °C、H ₂ = 30 mL/min、空気 = 400 mL/min、N ₂ = 25 mL/min 汎用内径 0.011 インチ FID ジェット (p/n 5200-0176)	
データレート	20 Hz	
注入シーケンス	日間精度 3 日間で注入 10 回。ヘリウム注入の後、水素注入	
	直線性および有効なキャリブレーションの各濃度で注入 4 回。ヘリウム注入の後、水素注入	
	パニラ抽出物 1 種類につき注入 6 回。ヘリウム注入の後、水素注入	

4本のカラムそれぞれについて、バニラ成分の標準に対する変換後のメソッドの日間精度を測定しました。該当の分析メソッドにおける、速度向上を伴う大きなカラムから小さなカラムへのメソッド変換において、バニラ成分の濃度範囲全体におけるインジェクタと検出器の直線性を示すため、直線性は30 m および10 m の DB-1 カラムで実証しました。実際のサンプルの精度を測定するため、バニラ抽出物と香料の実際のサンプルに10 m カラムの変換メソッドを適用しました。定量には、これらのバニラ抽出物製品に含まれる5種類の成分のキャリブレーションを使用しました。

Method Translator

Speed gain: 13.9948

Translate

Best Efficiency

Last file imported:

Original Method Parameters

Gas: H2

Length (m): 60 m

Inner Diameter (μm): 320 μm

Film Thickness (μm): 0.25 μm

Phase Ratio: 319.25

Inlet Pressure (gauge): 4.6893 psi

Outlet Flow (mL/min): 1 mL/min

Average Velocity (cm/s): 18.712 cm/sec

Outlet Pressure (abs): 14.696 psi

Holdup Time: 5.3442 min

Outlet Velocity (cm/s): 21.766 cm/sec

Calculated Method Parameters

Gas: H2

Length (m): 10 m

Inner Diameter (μm): 100 μm

Film Thickness (μm): 0.10 μm

Phase Ratio: 249.25

Inlet Pressure (gauge): 25.49 psi

Outlet Flow (mL/min): 0.5 mL/min

Average Velocity (cm/s): 55.902 cm/sec

Outlet Pressure (abs): 14.696 psi

Holdup Time: 0.29814 min

Outlet Velocity (cm/s): 111.44 cm/sec

Pressure Units: PSI

Original Column Capacity: 3.51

Translated Column Capacity: 0.10

The column capacity of the translated method is 3% of the original column capacity. You may need to adjust your injection volume.

Isothermal

Ramps

1

#	Ramp Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Init		40	0
1	5	280	2

Total Run Time: 50.00 min

#	Ramp Rate (°C/min)	Final Temp (°C)	Final Time (min)
Init		40	0
1	69.974	280	0.14

Total Run Time: 3.57 min

図 3. 最高効率を使用した水素キャリア条件下で 60 m DB-1 から 10 m DB-1 へ変換するためのメソッドパラメータの決定に使用した、メソッドトランスレータのスクリーンショット

結果と考察

メソッド変換

100 ppm の多成分標準のクロマトグラムが示すように (図 4)、この実験で使用した 4 本のクロマトグラフィーカラムはすべて、いずれのキャリアガス条件下でも、5 種類の対象化合物について、良好な分離ピーク形状とベースライン分離を達成しました。分析対象成分の分離度は、60 m DB-1 で > 4、10 m DB-1 で > 3.5 でした (表 2)。ヘリウムキャリアガスを使用したメソッド変換では分析速度が 10 倍向上し、水素キャリアガスを使用した場合は 14 倍向上しました (図 3)。いずれかのキャリアガスを用いた SOP を使用しているラボでは、同じ溶出プロファイルを維持しながら、メソッドの効率を大幅に向上させることができます。

表 2. 水素キャリアガスを使用して、100 ppm のバニラ成分を 60 m から 10 m ヘカラムメソッド変換したあとの分離度

化合物	60 m リテンション タイム (min)	平均分離度 (H ₂ キャリア) (n = 10)	10 m リテンション タイム (min)	平均分離度 (H ₂ キャリア) (n = 10)
デカン (ISTD)	16.254	88.995	1.260	16.471
グアヤコール	18.092	25.169	1.401	18.403
オイゲノール	25.574	97.835	1.962	69.526
未知不純物	25.858	3.725	n.d.	n.d.
バニリン	26.165	4.024	2.010	5.818
クマリン	27.160	12.183	2.088	9.175
エチルバニリン	27.678	6.444	2.122	3.979

* n.d. = 検出されず

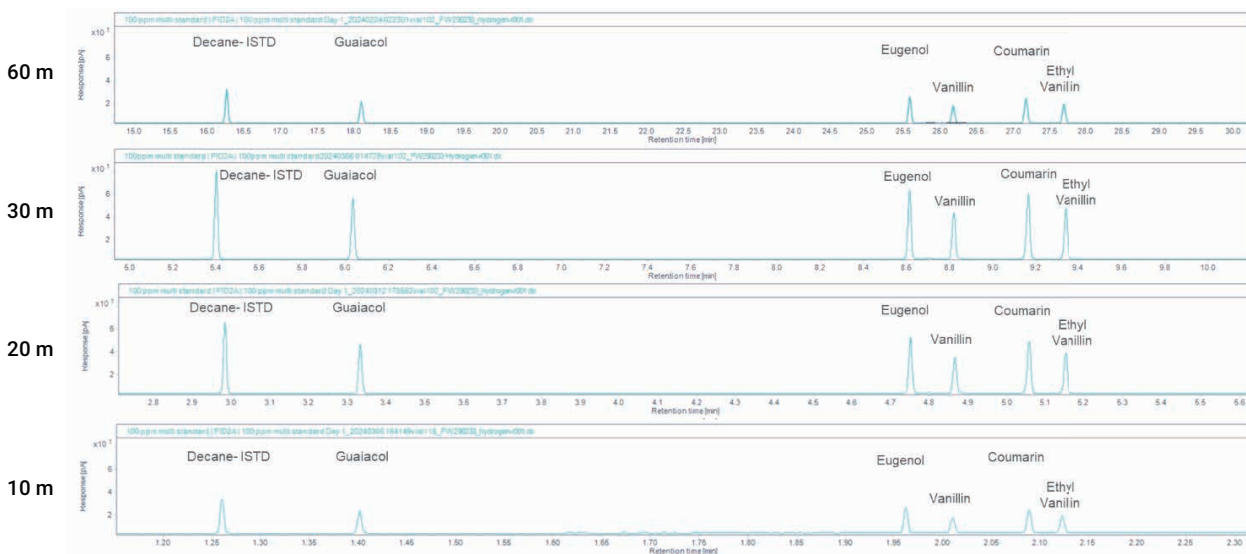


図 4. バニラの香り成分と内部標準のデカンを使用して、60 m から 10 m DB-1 カラムに水素キャリアガスメソッドを変換

面積精度

メソッド変換に使用した4本のカラムそれぞれについて、キャリアガス1種類あたり1日10回の注入を3日間行い、5種類の分析対象成分の面積精度を評価しました。キャリアごとに1日10回注入した結果を内部標準で正規化し、平均した後、表にまとめました。

異なるカラムを用いて実験された成分5種類と変換後のメソッド4種類すべてにおいて、面積精度はヘリウムキャリアガスで<1.85% RSD、水素キャリアガスで<2.5% RSDでした(表3)。両方のキャリアガスを用いた分析対象成分の精度の高さは、このメソッドが、1回限りだけでなく、数日間にわたる繰り返し測定においても、それぞれのタイプのカラムで確実に分離を処理できるという信頼性をもたらします。

メソッドキャリブレーション

直線性は、30 m DB-1 メソッドと 10 m DB-1 メソッドを用いて実証しています。5種類の分析対象成分の分析はそれぞれ、ヘリウムキャリアガスと水素キャリアガスの両方を使い、10 ppm から 100,000 ppm の範囲です。5種類の化合物の使用率は、最終的な用途によってはかなり大きくなるため、広い濃度範囲にわたって直線的な挙動を示すことが重要です。抽出物と香料に含まれるこのような化合物の濃度はさまざまです。さまざまな食品や香水で使われている香料に含まれる化合物の濃度は、さらにばらつきが大きくなる可能性があるため、広い濃度範囲全体に適したメソッド

を持つことは極めて望ましいことです。最小 R^2 は 0.9997 でしたが、一部の化合物では $R^2 = 1.0000$ でした。図5は、両方のキャリアガス条件下での 10 m DB-1 メソッドにおけるバニリンの直線回帰モデルの例です。表4から、

大きいサイズのカラムから、はるかに短く、直径の小さいカラムまで、直線性を維持したまま、分析時間が大幅に短縮されていることが明らかです。

表3. 水素キャリアガスを使用して変換された Agilent J&W DB-1 カラム4本の日間面積精度 (%RSD)

平均面積精度 (%RSD) (n = 注入 10 回/日)					
カラム	グアヤコール	オイゲノール	バニリン	クマリン	エチルバニリン
1 日目					
60 m	2.114	1.789	1.487	1.487	1.597
30 m	0.885	0.956	1.013	0.930	0.997
20 m	0.649	0.801	0.844	0.849	0.850
10 m	1.125	0.818	0.995	0.966	1.067
2 日目					
60 m	1.429	1.537	1.424	1.595	1.594
30 m	0.707	0.676	1.227	0.732	0.970
20 m	0.467	0.560	0.646	0.509	0.621
10 m	1.119	0.920	1.096	0.908	0.984
3 日目					
60 m	1.224	1.357	2.441	1.780	2.223
30 m	0.792	1.110	1.434	1.170	1.317
20 m	0.590	0.655	0.722	0.569	0.666
10 m	0.582	0.740	0.746	0.749	0.900

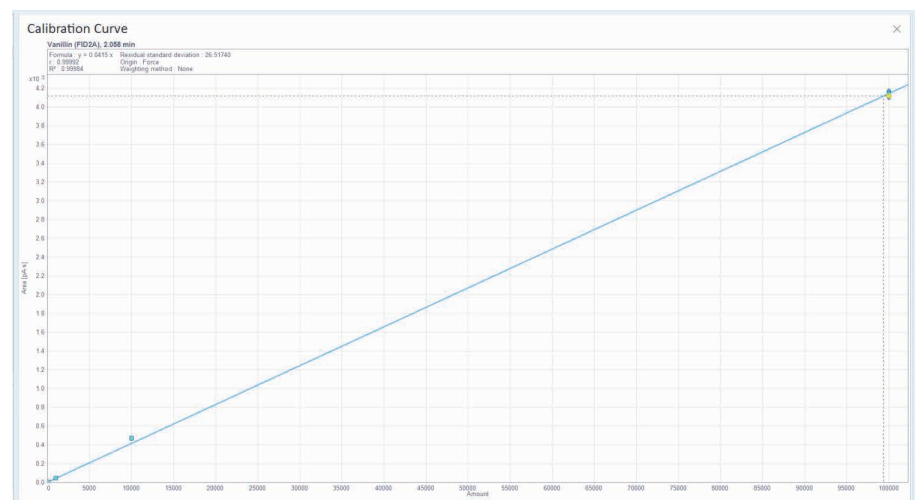


図5. 検量線全範囲の例。10 ~ 100,000 ppm のバニリンを Agilent J&W DB-1 で水素キャリアガスと 10 m カラムを使用して測定

バニラ抽出物と香料

10 m DB-1 カラムの分析メソッドを、オンラインショップで購入した 2 種類のバニラ抽出物と 1 種類のバニラ香料に適用したところ、両方のキャリアガスをを用いた分析メソッド変換に成功しました。メソッド変換と同様に、有効なキャリブレーション範囲全体での面積精度と線形挙動の確認は重要でした。抽出物と香料から検出された、分析対象のバニラの香り成分の定量は、このアプリケーションノートにおいて最後の重要な側面です。

10 m DB-1 メソッドで検出可能な成分面積について、両方のキャリアガス条件下で抽出物と香料をそれぞれ 6 回ずつ注入したときの面積精度は < 4 % RSD でした (表 5)。この面積精度は、変換後のメソッドを、分析標準よりも複雑なマトリックスを持つバニラ抽出物とバニラ香料のサンプルに適用したときに、期待どおりの結果がもたらされたことを示しています。

特に、抽出物と香料に含まれるバニラの香り成分 5 種類の検出可能量をより正確に定量するため、前述の全体的なメソッドキャリブレーションに加えて、100 ppm から 5,000 ppm の有効なキャリブレーション範囲も調べました。より狭い濃度範囲を選択したのは、抽出物中に予想された成分の濃度との関連性を高めるためです。有効なキャリブレーション範囲内での 5 種類の成分それぞれの R^2 は、範囲のより広いメソッドキャリブレーションに見られる性能と同様でした (表 6)。

表 4. 30 m および 10 m の DB-1 における 10 ~ 100,000 ppm のバニラ成分の直線性の決定係数

化合物	R^2	
	ヘリウムキャリアガス	水素キャリアガス
30 m DB-1 (n = 4)		
グアヤコール	0.9999	0.9999
オイゲノール	1.0000	0.9999
バニリン	0.9997	0.9997
クマリン	0.9998	0.9998
エチルバニリン	1.0000	0.9999
10 m DB-1 (n = 4)		
グアヤコール	1.0000	1.0000
オイゲノール	0.9999	0.9999
バニリン	0.9998	0.9998
クマリン	0.9998	0.9998
エチルバニリン	1.0000	1.0000

表 5. 実際のバニラサンプル 3 種類における検出可能な成分の面積精度 (%RSD)

カラム	グアヤコール	オイゲノール	バニリン	クマリン	エチルバニリン
ヘリウムキャリアガス、10 m (n = 6)					
純粋なバニラ抽出物	n.d.	n.d.	1.263	n.d.	n.d.
オーガニックバニラ抽出物	n.d.	n.d.	1.009	n.d.	n.d.
人工バニラ香料	n.d.	n.d.	3.812	n.d.	2.631
水素キャリアガス、10 m (n = 6)					
純粋なバニラ抽出物	n.d.	n.d.	0.862	n.d.	n.d.
オーガニックバニラ抽出物	n.d.	n.d.	0.342	n.d.	n.d.
人工バニラ香料	n.d.	n.d.	1.269	n.d.	0.902

* n.d. = 検出されず

表 6. 10 m Agilent J&W DB-1 カラムにおける 100 ~ 5,000 ppm のバニラの香り成分の決定係数、n = 4

化合物	R^2	
	ヘリウムキャリアガス	水素キャリアガス
グアヤコール	0.9998	0.9998
オイゲノール	0.9999	1.0000
バニリン	0.9999	0.9998
クマリン	0.9999	0.9999
エチルバニリン	0.9998	0.9998

注入口の消耗品に対するマトリックス効果を軽減すると同時に、注入の気化容量を減らすため、抽出物と人工香料はそれぞれ、エタノールで10倍に希釈する必要がありました。抽出物にはかなりの水分が含まれていることがあります。これにより、注入時に注入口で蒸気量が増大し、カラム導入量が一定にならない可能性があります。抽出物のマトリックスの非揮発性成分を希釈しないまま注入した場合、この成分が注入口ライナを汚染し、事実上、注入口ライナのパッキングがサンプル流路内のフィルターようになります。これは、複数回注入の精度調査の際、カラム導入量の安定性にも影響しました。

バニラ抽出物と香料のクロマトグラフィー(図7)は、バニリンとエチルバニリン以外の多くの成分において検出される可能性があることを示していますが、混和物の可能性が示された成分でさえ、これらの信号のS/Nが10未満であったため、定量は信頼性を欠いていました(10は定量下限のしきい値)。

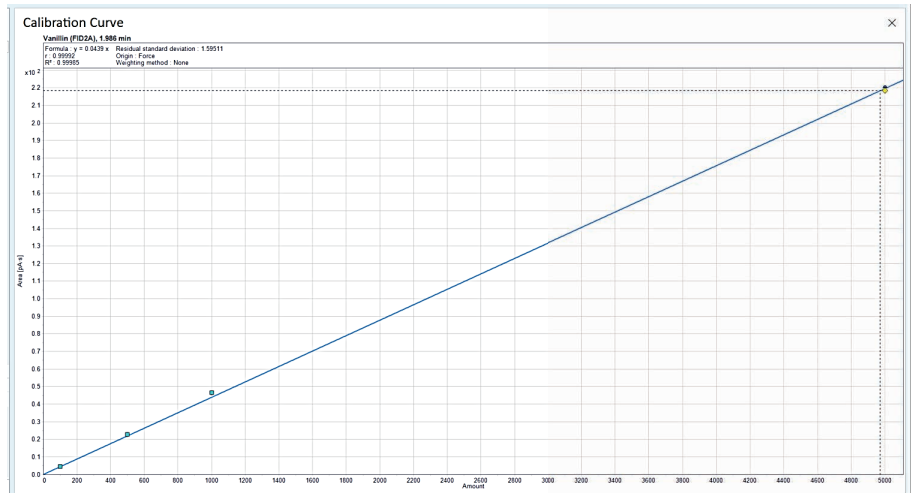


図6. 有効なキャリブレーション範囲の例。100～5,000 ppm のバニリンを Agilent J&W DB-1 で水素キャリアガスと 10 m カラムを使用して測定しました。

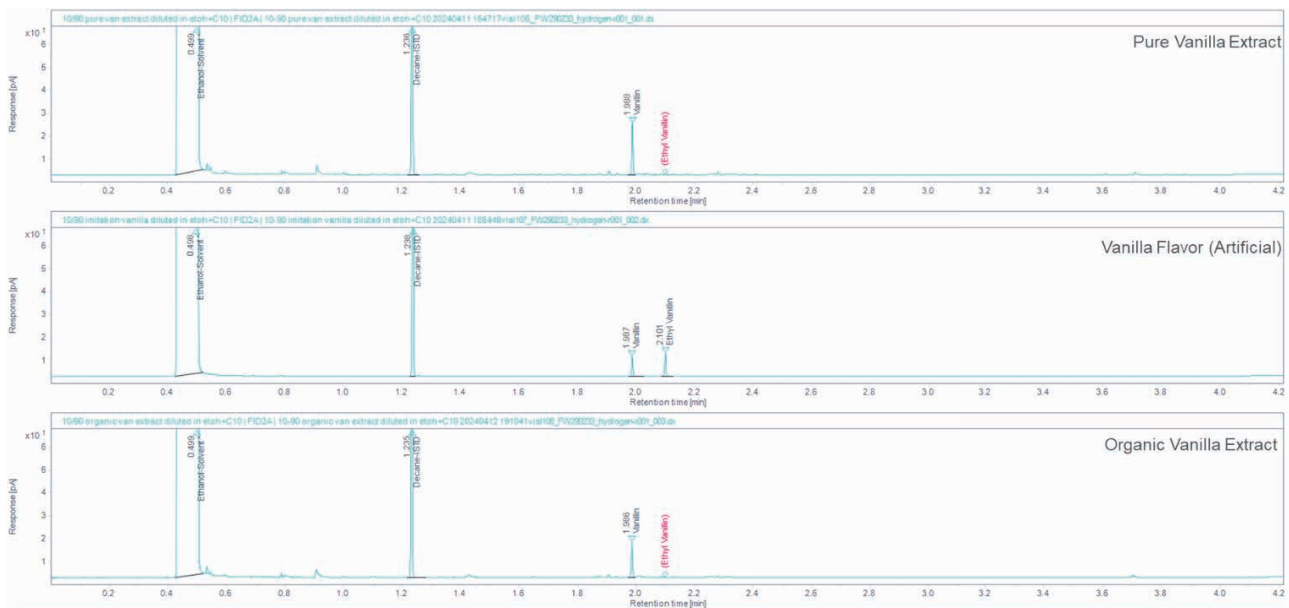


図7. 市場で入手できる3種類のバニラ抽出物製品において、Agilent J&W DB-1 カラムの変換後のメソッドで得られた代表的なクロマトグラム

存在の可能性がある低レベルのシグナルについては、質量スペクトル検出器 (MSD) がピーク同定の二次情報源として好まれます。これは、低レベルの信号が、抽出物の複雑なマトリックスから分離された成分で、類似した捕集挙動を持ちますが、分析対象成分からの混和物ではない可能性があるためです。各市場製品は、定量可能なレベルのバニリンを示し (図 8)、成分は S/N > 10 で、リテンションタイムは標準と一致しました。人工香料にのみ、エチルバニリンという余分な成分が含まれていましたが、これは予想外のことでありませんでした。人工香料や模造品は、香料の同定基準を損なうことなく、天然のエチルバニリンを含有できます。

結論

このアプリケーションノートでは、Agilent 8850 GC システムを使用して、複雑な香料マトリックスに適した比較的長い R&D メソッドで、バニラの香り成分のサブセットを分析する方法を説明しました。また、同じバニラの香り成分を 5 分以内に分析するメソッドも実証しました。この高速メソッドは、香料メーカーの QC ラボのワークフローなど、効率と高サンプルスループットに重点を置いたラボで高く評価されています。QC ラボの GC ユーザーは、より短く、直径の小さいカラムを使用しています。これらのユーザーは主に、数時間のうちに製造される香料の配合成分に追加される前の、生の原料の純度を分析しているからです。このため、香料メーカーの日常業務には迅速なメソッドが不可欠です。

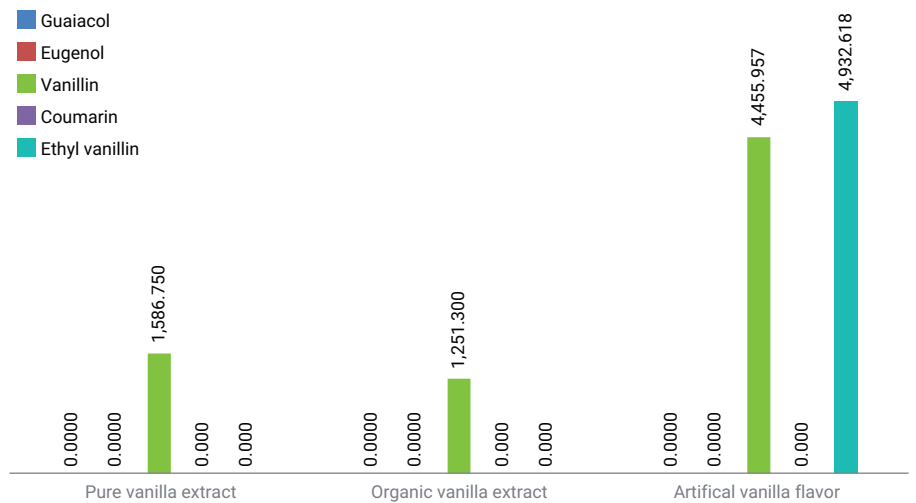


図 8. 市場で入手できる 3 種類のバニラ抽出物製品における、水素キャリアガスを用いて検出可能な成分濃度 (ppm)

50 分のメソッドから 5 分未満のメソッドへの変換を促進するため、メソッドトランスレータを用いて、メソッドパラメータを簡単に変換することができました。また、水素など代替キャリアガスの使用を希望するユーザーのために、8850 GC システムと、ヘリウム使用を低減するためのモジュールのヘリウム切り替えスイッチを組み合わせました。このモジュールを使用すると、シーケンステーブルの行ごとにキャリアガスを切り替えることができます。注入口に配管されたガスを手作業で切り替えたり、別のキャリアガスに切り替えるためにシーケンスが終わるのを待ったりする必要はありません。ヘリウム切り替えスイッチがラボにもたらす柔軟性と時間短縮により、分析効率が向上し、より高いサンプルスループットの機会が生まれます。

時間のかかるメソッドから迅速なメソッドへ変換することで、分析速度がヘリウムキャリアガスメソッドの場合は 10 倍、水素キャリアガスメソッドの場合は 14 倍になります。時間のかかるメソッドか、迅速なメソッドか、ヘリウムキャリアガスか、水素キャリアガスかにかかわらず、5 種類のバニラの香り成分で実証したとおり、8850 GC の性能はベースライン分離 3.5 超、日間面積精度 2.5 % RSD 未満、直線性 $R^2 \geq 0.9997$ をもたらし、一部の化合物は $R^2 = 1.0000$ を達成しました。

参考文献

1. GC カリキュレータおよびメソッド変換ソフトウェアはホームページからダウンロード可能です: <https://www.agilent.com/en/support/gas-chromatography/gccalculators>
2. Cristina, M. M.-L.; et al. Prediction of coumarin and Ethyl Vanillin in Pure Vanilla Extracts Using MID-FTIR Spectroscopy and Chemometrics. *Talanta* **2019**, 197, 264–269. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.01.033.
3. Lingxia, X.; et al. Advances in the Vanillin Synthesis and Biotransformation: A Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* **2024**, 189(A). DOI: 10.1016/j.rser.2023.113905

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いません。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。

DE53316897

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2024
Printed in Japan, May 13, 2024
5994-7401JAJP