

水素キャリアガスと Agilent HydroInert イオン源を用いた GC/MS による 香料と香気成分の分析



著者

Luca Godina
Agilent Technologies, Inc.

概要

香料と香気成分は一般的に、匂いや味を作り出すためにさまざまな消費財で使用される複雑で均質な混合物です。このような成分は天然に存在するか、または人工的に作り出すことができ、食品にも食品以外の製品にも含まれています。これらの成分は、類似した構造と化学的特性を持つ数百種類の成分で構成されています。香料と香気 (F&F) の分析では通常、ガスクロマトグラフィー / 質量分析 (GC/MS) のような高効率の手法が使用されます。

現在はヘリウムガスの供給に関する課題が継続しているため、世界中のラボが、クロマトグラフィー結果の品質を維持しながら別のキャリアガスを使用することにより、ヘリウムへの依存度を低減しようとしています。そのため、GC/MS でキャリアガスに水素が使用されるようになってきました。その理由は入手しやすく、水素発生装置で製造できるためです。また、水素はクロマトグラフィーの速度と分離能の点で有利に働く可能性があることから、GC アプリケーションにおけるヘリウムの最良の代替手段です。ただし、水素はヘリウムのような不活性ガスではないため、質量分析計の電子イオン化 (EI) イオン源で望ましくない化学反応を引き起こすおそれがあります。こういった反応により、質量スペクトルでイオン比が乱れたり、スペクトルの忠実度が落ちたり、ライブラリー一致スコアが低くなったり、ピークテーリングが発生したり、一部の分析対象物のキャリアレーションで非線形性が現れたりする可能性があります。その対策として、GC/MS および GC/MS/MS 用の新しい EI イオン源が開発され、キャリアガスとして水素を使用するために最適化されました。今回の評価システムでは、F&F 混合物の分析において、新しいイオン源である Agilent HydroInert イオン源を使用しました。

はじめに

通常 F&F 混合物の同定は、GC/MS によってクロマトグラフィーデータと質量スペクトルを組み合わせることで実施します。そのため、対象となる化合物の同定では、ライブラリに確実に一致する高品質のスペクトルを取り込むことが重要になります。ライブラリスペクトルを取得する最も一般的な方法は、キャリアガスとしてヘリウムを使用することです。したがって、キャリアガスに水素を使用すると、イオン源での望ましくない化学反応の影響を受けやすい化合物では、照合に大きな影響が及ぶ可能性があります。

HydroInert イオン源は、Agilent エクストラクタイオン源設計に基づく新しいイオン源です。キャリアガスとして水素を使用する際にこのイオン源を選択することにより、エクストラクタイオン源で得られるのと同等の性能を実現することが可能になります。HydroInert イオン源の利点は、スペクトルの歪みが最小限に抑えられ、感度が向上し、高沸点の化合物で優れたピーク形状が得られることです。

実験方法

材料および試薬

さまざまな化合物、オレンジエッセンスオイル、レモンエッセンスオイルを含む化学混合物は、SACMAR S.R.L (Via Keplero 7, 20019 Settimo Milanese (MI)、イタリア) より提供いただきました。

機器とメソッド

水素キャリアを使用した際との違いを認識することが重要です。『Agilent EI GC/MS Instrument Helium to Hydrogen Carrier Gas Conversion guide』(Agilent EI GC/MS 機器のヘリウムから水素キャリアガスへの切り替えのユーザーガイド)⁵ には、キャリアガスをヘリウムから水素に移行する手順が詳細に記載されています。このユーザーガイドでは、水素キャリアガスに適切に移行する際に必要になる、水素の安全性に関する考慮事項と手順の概要について説明されています。

Agilent 8890 GC システムを次で構成しました。

- スプリット/スプリットレス注入口
- Agilent ウルトライナート低圧力損失ライナ (部品番号 5190-2295)
- Agilent J&W DB-WAXetr, 30 m × 250 μm × 0.25 μm (部品番号 122-7332)

Agilent 5977B GC/MSD を次で構成しました。

- HydroInert イオン源 (部品番号 G7078-67930、5977 GC/MSD 用)
- エクストラクタレンズ、9 mm (HydroInert イオン源での標準)

表 1. GC/MS メソッド

Agilent 8890 GC システム			
オープン	°C/min	保持 (°C)	保持 (分間)
		45	4
	8	220	12
	8	230	4
分析時間: 43.125 分			
注入口 (スプリット/スプリットレス)			
ライナ	ウルトラインアート低圧力損失ライナ (部品番号 5190-2295)		
温度	210 °C		
モード	スプリット		
スプリット比	25:1		
カラム			
カラム	J&W DB-WAXetr, 30 m × 250 μm × 0.25 μm (部品番号 122-7332)		
モード	定流量		
カラム流量設定値	1.4 mL/min		
Agilent 5977B GC/MSD			
イオン源	HydroInert		
取り込みモード	スキャン		
チューニング	Etune		
ゲイン係数	1		
低質量	40		
高質量	250		
A/D サンプル	4		
スレッシュホールド	150		
イオン源温度	280 °C		
四重極温度	150 °C		

結果と考察

ピーク形状

水素はおそらくガスクロマトグラフィーにおける最良の代替キャリアガスであり、最適な線速度で動作させた際に最高の分離能が得られます。ただし、MS 検出器で使用する際には、顕著なピークテーリングやスペクトル変化を引き起こす場合があるため、スペクトル照合に基づいた同定に問題が発生し、定量に影響を与えます。図 1 に、さまざまな化学的特性を持つ F&F 混合化合物のクロマトグラムを示します。HydroInert イオン源 (A) と 3 mm エクストラクタレンズ (B) を取り付けた標準エクストラクタイオン源を用いてデータを取得しました。HydroInert イオン源を使用した場合、すべての化合物、特に溶出がより遅い化合物のピーク形状が大幅に改善されています。例えば、マルトールに対応する TIC ピークを図 2A に示します。HydroInert イオン源を使用する際には、テーリングが大幅に低減しています (上側の緑色)。図 2B に、マルトールのデコンボリュートされたスペクトルの優れたライブラリ照合結果 (上側) と、ミラープロットしたライブラリスペクトル (下側) を示します。キャリアガスとしてヘリウムを使用した元のメソッドの分析時間は 82 分でした。メソッドを水素へと移行すると、速度が 2 倍になったため分析時間が 41 分になりましたが、クロマトグラフィー分離能は維持されています。

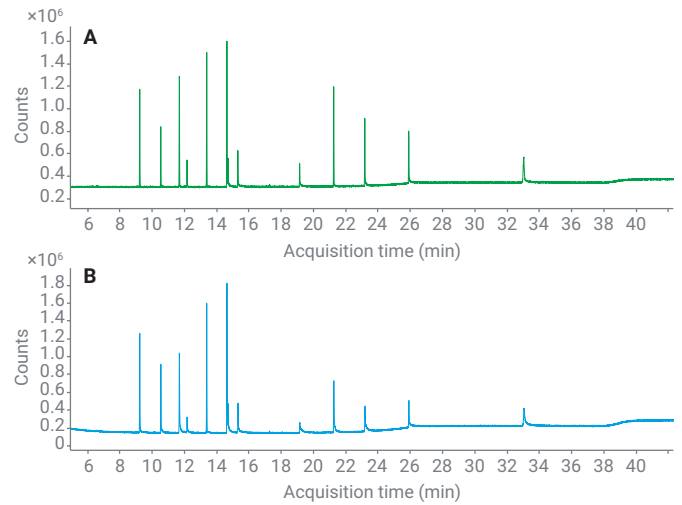


図 1. 標準エクストラクタイオン源 (3 mm) (B) の場合と比較して、水素キャリアガスを使用した Agilent HydroInert イオン源 (A) の場合の方が大幅に改善されている F&F 混合物のピーク形状

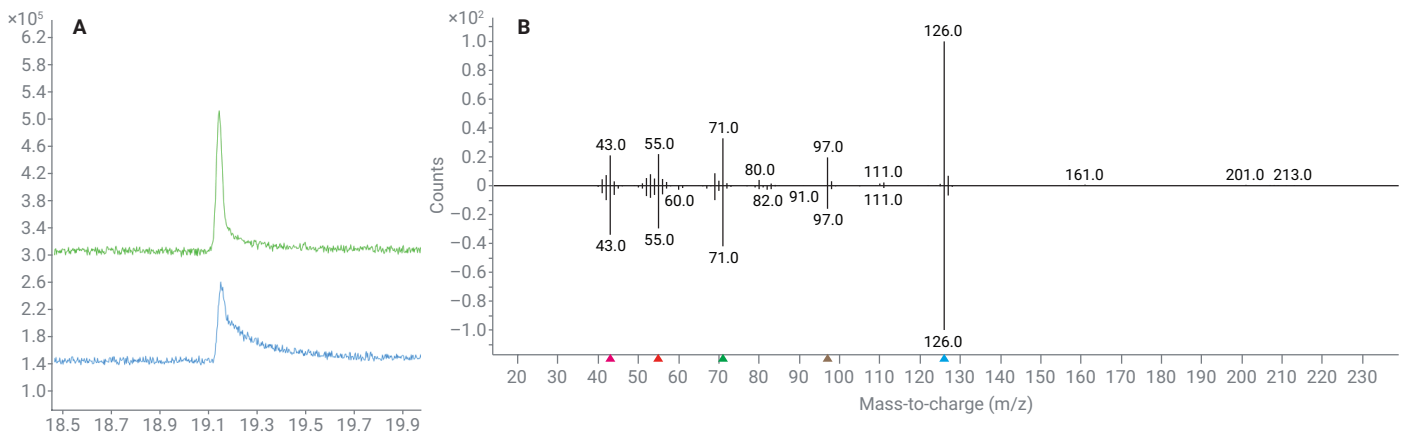


図 2. 水素キャリアガスを使用して取り込んだ、Agilent HydroInert イオン源 (9 mm、上側) と標準イオン源 (3 mm、下側) でのマルトールのピーク形状の比較 (A)。Agilent HydroInert イオン源を使用して取り込んだマルトールのデコンボリュートした質量スペクトル、および参照ライブラリスペクトルのミラープロット (B)。優れたライブラリー一致を示しています。

ライブラリ照合

MS でキャリアガスとして水素を使用すると、一部の化合物のスペクトルが大きな影響を受け、ライブラリー一致スコアに悪影響を及ぼします。表 2 に、水素キャリアガスを使用した際に F&F 混合化合物 (図 1 のクロマトグラムに示されている化合物) で得られたライブラリー一致スコアを示します。Agilent MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェアを使用してスペクトルデータをデコンボリュートし、混合物中に存在する 13 種類の化合物を同定しました。『Wiley Mass Spectra of Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds』のライブラリを使用し、スペクトル照合に基づいて化合物を同定しました。

表 2. 標準イオン源 (標準 3 mm レンズ搭載) と Agilent HydroInert イオン源 (水素キャリアガス使用) の一致スコアの比較。緑色で強調表示されているのは、HydroInert イオン源により良好な結果が得られた際の値です。

リテンション タイム	化合物名	標準イオン源の マッチファクター	HydroInert イオン源の マッチファクター
9.23	ヘキサ-(3Z)-エニルアセテート	93.73	96.20
10.54	ヘキサ-(3Z)-エノール	96.88	96.68
11.69	メントン	89.04	95.46
12.17	イソメントン	83.65	96.06
13.38	酢酸メンチル	88.59	96.77
14.64	メントール	90.89	97.70
14.71	酪酸	96.84	95.34
15.32	酪酸 (2-メチル)	96.08	94.26
19.15	マルトール	87.52	89.90
21.26	デカラクトン (γ)	86.81	96.65
23.19	スルフロール	90.25	97.15
25.91	バニリン	93.98	95.91
33.04	ラズベリーケトン	90.60	94.21

全体的に、HydroInert イオン源は非常に良好な一致スコアを示しています。水素による望ましくない相互作用の影響を受けていない残りの化合物についても、ライブラリー一致スコアは同等です。

実際のサンプル分析：オレンジおよびレモンエッセンスオイル

キャリアガスとして水素を使用した標準混合物の場合と同じ条件下で、オレンジおよびレモンエッセンスオイルを分析しました (クロマトグラムを図 3 に示します)。Unknowns Analysis を使用して化合物を同定しました (表 3)。Unknowns Analysis データ処理メソッドでの化合物同定の閾値として、最低一致スコアを 75 に設定しました。これにより、同定した成分でのライブラリー一致スコアが低い化合物が表内に表示されないようにしました。

Unknowns Analysis により、オレンジエッセンスオイルにおいて 42 種類の化合物、レモンエッセンスオイルにおいて 54 種類の化合物を同定しました。キャリアガスとして水素を使用した場合、同定された化合物の大部分の一致スコアは 80 を超えていました (表 3)。

図 4 に、低濃度でのグラニアルジメチルアセタールの優れたピーク形状、およびライブラリー一致スコアが 88.2 である良好なスペクトル照合結果を示します。

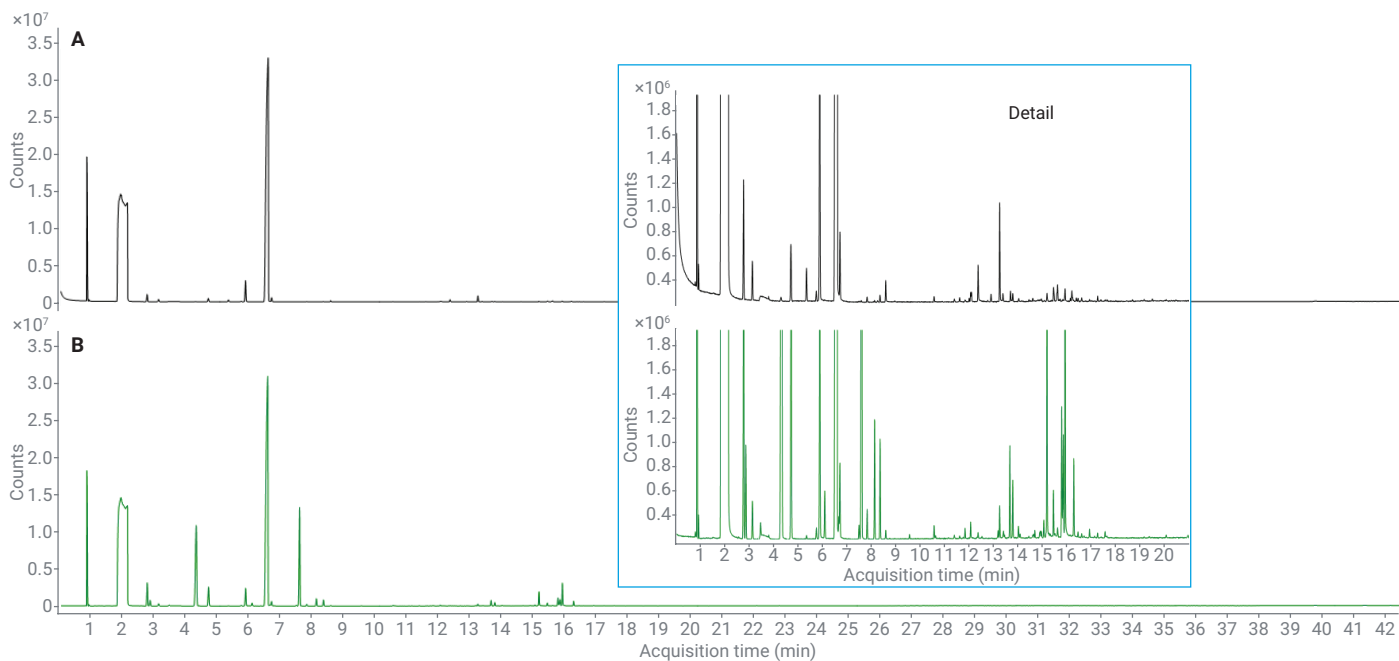


図 3. 実際のエッセンシャルオイルサンプルのトータルイオンクロマトグラム。水素キャリアガスと Agilent HydroInert イオン源を使用して、オレンジ (A) およびレモン (B) エッセンシャルオイルを分析しました。

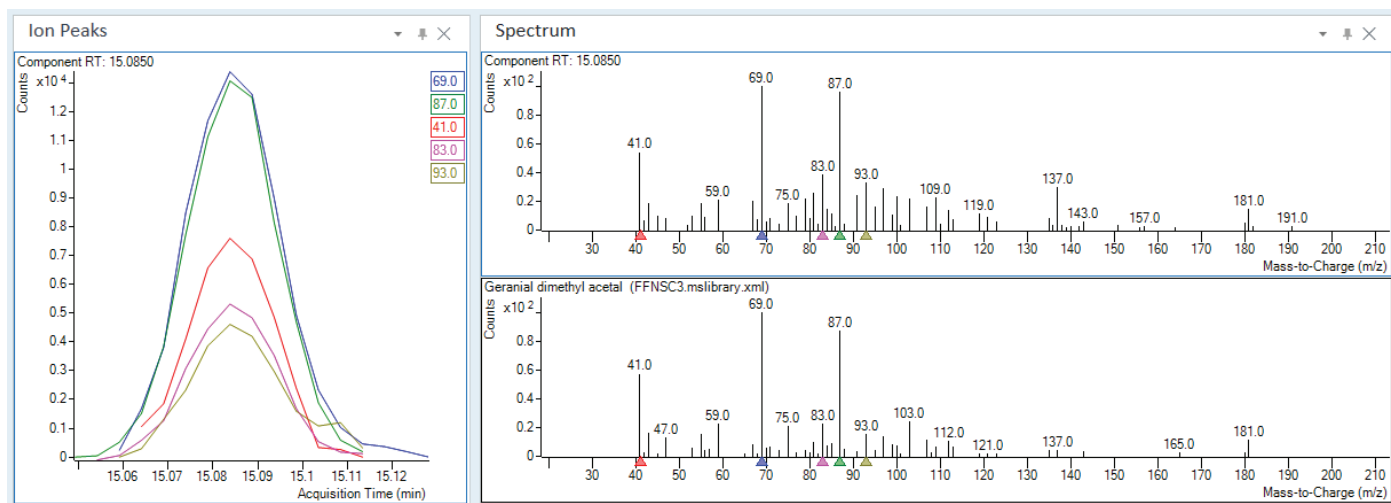


図 4. レモンエッセンシャルオイルで検出されたゲラニアルジメチルアセタールのピーク形状 (左)、デコンポリュートされた質量スペクトル (右上)、およびライブラリスペクトル (右下)

表 3. スペクトルのデコンボリューションに基づいた Agilent MassHunter Unknowns Analysis により、実際のエッセンシャルオイルサンプルで同定された化合物

オレンジ		
RT	化合物名	マッチファクター
2.82	ピネン (α -)	98.32
3.18	トルエン	96.24
4.35	サビネン	84.38
4.35	ピネン (β -)	78.25
4.76	フェランドレン (β -)	97.67
5.39	カレン (デルタ-3-)	97.39
5.79	フェランドレン (α -)	91.58
5.93	ミルセン	97.81
6.65	リモネン	97.73
6.76	テルピネン (ガンマ-)	94.82
7.87	オシメン ((E)-、 β -)	83.73
8.40	テルピネン (α -)	88.37
8.63	オクタナール (n -)	97.39
10.60	ノナナール (n -)	93.09
11.43	ピネンオキシド (α -)	77.89
12.04	酢酸 (オクチル-)	90.95
12.10	シトロネラール	90.73
12.13	クベベン (α -)	81.72
12.40	デカナール (n -)	97.00
12.93	ムウロラ-4(14),5-ジエン (<i>cis</i> -)	85.46
13.28	アントラニル酸リナリル	95.74
13.42	オクタノール (n -)	93.27
13.73	コバエン (β -)	90.26
13.82	カリオフィレン (E)-	92.36
14.06	フィトールアセタート	77.26
15.22	ネラール	85.76
15.48	テルピネオール (α -)	90.36
15.62	ドデカナール (n -)	87.12
15.95	ゲラニール	88.76
16.23	カジネン (δ -)	91.30
16.42	ヘキサノール (2-エチル-)	78.15
16.49	ギ酸シトロネリル	84.67
22.20	シネンサール (β -)	84.11
23.33	シネンサール (α -)	75.25

レモン		
RT	化合物名	マッチファクター
2.82	ピネン (α -)	98.34
2.92	ツジエン (α -)	98.36
3.18	トルエン	97.33
3.52	2,2-ジメチル-5-メチレンノルボルネン	97.24
4.37	ピネン (β -)	97.75
4.76	サビネン	98.12
5.40	カレン (デルタ-3-)	84.34
5.80	フェランドレン (α -)	89.98
5.94	ミルセン	97.76
6.14	テルピネン (α -)	97.07
6.63	リモネン	97.86
6.71	ユーカリプトル	86.44
6.76	テルピネン (ガンマ-)	93.51
7.54	オシメン ((z)-、 β -)	93.28
7.64	3-メチルアピビネン	96.25
7.87	オシメン ((E)-、 β -)	97.71
8.17	シメン (<i>para</i> -)	98.16
8.40	テルピノレン	97.28
8.63	オクタナール (n -)	94.84
9.60	ヘプタ-5-エン-2-オン (6-メチル-)	91.48
10.60	ノナナール (n -)	95.38
11.43	リモネンオキシド (<i>cis</i> -)	80.38
11.87	サビネン水和物 (<i>trans</i> -)	91.53
12.10	シトロネラール	94.30
12.40	デカナール (n -)	93.57
13.22	メント-2-エン-1-オール (<i>cis</i> -、 <i>para</i> -)	80.72
13.28	アントラニル酸リナリル	95.21
13.44	ベルガモテン (α -、 <i>trans</i> -)	86.10
13.70	ベルガモテン (α -、 <i>cis</i> -)	95.58
13.82	カリオフィレン ((E)-)	94.34
14.05	テルピネン-4-オール	86.16
14.12	ファルネセン ((E)-、 β -)	80.23
14.72	シトラールジエチルアセタール	82.06
14.94	酢酸シトロネリル	88.08
14.99	ファルネセン ((Z)-、 β -)	78.05
15.09	ゲラニールジメチルアセタール	88.24
15.21	ネラール	91.56
15.48	テルピネオール (α -)	95.76
15.82	ピサボレン (β -)	93.58
15.88	<i>cis</i> -酢酸ゲラニル	95.30
15.95	ゲラニール	93.83
16.31	酢酸ラバンズリル	94.83
16.95	ネロール	87.28
17.59	ゲラニオール	79.31
22.10	ピサボロール (<i>epi</i> - α -)	78.09

結論

香料と香気の分析で重要になるのは、対象となる化合物を良好なスペクトルで同定して、製造する製品の品質を保証することです。ヘリウムが入手困難になっているため、GC/MS では水素が新しいキャリアガスになりつつあります。水素はこれまでも GC での最良のキャリアガスとして認識されてきましたが、ヘリウムによって精査されたスペクトルデータベースに対するライブラリ照合結果に歪みが生じるなど、MS 検出において制限が生じる可能性があります。

Agilent HydroInert イオン源は、ヘリウムの持続可能な代替手段である水素キャリアガスを使用でき、さらに従来の EI イオン源と比較して水素キャリアガスでの GC/MS 性能が向上します。

今回の実験では、HydroInert イオン源を使用することで、キャリアガスとして水素を使用した場合に発生するスペクトル異常の問題が解決されることが示されました。結果は、一部の化合物でスペクトル照合結果が改善されたことを示しています（10% 超）。すべての化合物、特に溶出がより遅い化合物について、分離ピーク形状も大幅に改善されました。

参考文献

1. Rubiolo, P. et al. Gas Chromatography in the Analysis of Flavors and Fragrances. *In Practical Gas Chromatography*; Springer Berlin Heidelberg, **2014**; pp 717–743.
2. Flavor and fragrances market worldwide - Statistics & Facts. Dominique Petruzzi, May 19, **2022**. <https://www.statista.com/topics/6300/flavor-and-fragrances-market-worldwide/#topicOverview>
3. Quimby, B. D; Andrianova, A. A. 水素キャリアガスと HydroInert イオン源を用いたヘッドスペース GC/MSD による飲料水中の揮発性有機化合物の分析. *Agilent Technologies application note*, publication number 5994-4963JAJP, **2022**.
4. HydroInert イオン源を組み合わせた Agilent イナートプラス GC/MS システムの概要. *Agilent Technologies technical overview*, publication number 5994-4889JAJP, **2022**.
5. Agilent EI GC/MS Instrument Helium to Hydrogen Carrier Gas Conversion. *Agilent Technologies user guide*, publication number 5994-2312EN, **2022**.

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。

DE26854744

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, May 23, 2023

5994-6015JAJP