

低温圧搾したピンクグレープフルーツ エッセンシャルオイルの分析における キャリーオーバーの低減と再現性の向上

Agilent J&W DB-HeavyWAX GC カラム

著者

Vanessa Abercrombie

概要

ピンクグレープフルーツなど低温圧搾した柑橘系のエッセンシャルオイルの分析は、高分子量の芳香族化合物が存在するために、キャリーオーバーや分析の長時間化が発生し、困難を伴う場合があります。Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムは、最高使用温度が定温時 280 °C、プログラムされた場合 290 °C で、従来の WAX タイプカラムよりも高い温度で用いることができます。温度範囲が広がったことにより、低温圧搾したピンクグレープフルーツオイルに含まれる化合物の長時間を要する分析を高速化し、再現性を向上させます。DB-HeavyWAX カラムは Agilent J&W DB-WAX GC カラムと非常に類似した選択性を示しました。

はじめに

エッセンシャルオイルは、洗剤から香水まで、家庭用製品に広く使用されており、多くの芳香族化合物を含んでいます。エッセンシャルオイルの抽出方法は主に 2 種類で、蒸留法と低温圧搾法があります。蒸気蒸留法は、有機物に熱を加えますが、圧搾である低温圧搾法は機械的に処理するため熱を加えません¹。低温圧搾法による抽出の利点は、蒸気蒸留法で回収されない沸点の高い高分子量の化合物が失われないことです。高分子量の化合物は、芳香剤や種々の香りのアロマの成分であり、ピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルなどの柑橘系のオイルにも多く含まれています²。

低温圧搾したエッセンシャルオイルに含まれる化合物は通常、WAX カラムと呼ばれる 100 % ポリエチレングリコール相カラムを用いて分析します。従来の WAX カラムの最高使用温度は、熱安定性が下がるなどの問題があるため、定温時 250 °C、プログラムされた場合 260 °C です。低温圧搾した柑橘系のエッセンシャルオイルに含まれる高分子量の化合物を分析するには、この温度では困難な場合があります。低温圧搾した柑橘系のエッセンシャルオイルに含まれる化合物をすべて分析する際に生じる問題には、次のような対策があります。

- 最終オープン温度を長時間、最高温度で保持する
- 既定の最高許容使用温度 (MAOT) を超えて使用するというリスクをとる
- 高い温度で使用できるが、選択性は最適ではない相を持つ別のカラムを選択する

GC 分析の最終ホールド時間を長くすると、溶出時間が遅い化合物が溶出される可能性があります。また、すべての揮発性化合物を溶出するために、既定の MAOT を超えた温度で分析すると、カラムの固定相が損傷するリスクがあります。長い分析時間では、この損傷により、カラムのリテンションタイムがシフトしたり、カラムブリードが高くなったり、時には化合物のリテンションタイムの順序が変わることがあります³。

Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムは、温度上限が 280/290 °C まで引き上げられています。そのため、低温圧搾した柑橘系のエッセンシャルオイルに含まれる沸点の高い化合物の分析が、カラムの固定相を損傷せずに可能になります。このアプリケーションノートでは、DB-HeavyWAX カラムの高い温度上限の利点について検討します。温度上限が高まったことで、低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルの分析において、再現性の向上とキャリーオーバーの低減が可能

になります。また、低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルのアプリケーションを用いて、従来の WAX カラムと DB-HeavyWAX カラムの熱安定性を検証しました。この検証は DB-HeavyWAX カラムの熱安定性の向上を示すために実施しました。

実験方法

スプリット/スプリットレス注入口付 Agilent 7890 GC/FID、Agilent 7693 サンプラと Agilent MassHunter ソフトウェアを用いて GC/FID 分析しました。

サンプル前処理

低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルのサンプルは Emily' s Oils & Essentials (カリフォルニア州フェア・オークス) から購入し、希釈せずに注入しました。

分析条件

GC 分析条件	
カラム	Agilent J&W DB-HeavyWAX、30 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 122-7132) Agilent J&W DB-WAX、30 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 122-7032) 他社製 WAX カラム、30 m × 0.25 mm、0.25 μm
キャリアガス	ヘリウム、定流量、1 mL/min
オープン	プログラム 1: 60 °C (2 分間)、5 °C/分で 250 °C まで昇温 (30 分間) プログラム 2: 60 °C (2 分間)、5 °C/分で 280 °C まで昇温 (30 分間)
注入口	スプリットモード、250 °C、スプリット比 200:1
注入口ライナ	ウルトライナート、低圧力損失 (p/n 5190-2295)
GC/FID	Agilent 7890B GC、FID/MSD 付
サンプラ	Agilent 7693 オートサンプラ
FID 条件	
温度	280 °C
水素	30 mL/min
空気	400 mL/min
カラム + メークアップガス	25 mL/min
消耗品	
セプタム	ブリード/温度最適化、BTO、11 mm セプタム (p/n 5183-4757、50 個)
ゴールドシール	ウルトライナートゴールドシール (p/n 5190-6145、10 個)
バイアル	2 mL、スクリュートップ、茶色、ラベル付、認定付 (p/n 5182-0716、100 個)
バイアルインサート	250 μL ガラスインサート、不活性化 (p/n 5181-8872、100 個)
バイアルキャップ	9 mm 青色スクリュューキャップ、PTFE/赤シリコンセプタム (p/n 5185-5820、500 個)
注入口/FID	85:15 ポリイミド: グラファイトフェラル (p/n 5062-3508、10 個)

結果と考察

低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルのサンプルを DB-HeavyWAX カラムに注入しました。最初のオープン温度は 60 °C で、2 分間保持した後、5 °C/min で最終温度まで昇温し、30 分間保持しました。図 1 に、ピンクグレープフルーツエッセンシャル

オイルの分析において、最終温度が 280 °C と 250 °C で比較した場合を示します。最終温度が高い方が、遅い時間に溶出する化合物のピークがシャープで、より多くの化合物が溶出できています。

最後に溶出される 2 種類の化合物、メランジンとイソメランジンのうち大きい方のピークは、最終温度 250 °C で 30 分間保持した場合は溶出されませんでした。この 2 種類の化合物は図 2 に示したように、キャリアオーバーし、次の注入で検出されています。したがって、最終温度を 280 °C で分析しないと、キャリアオーバーにより、再現性がなくなり、誤った結果を招く原因ともなります。

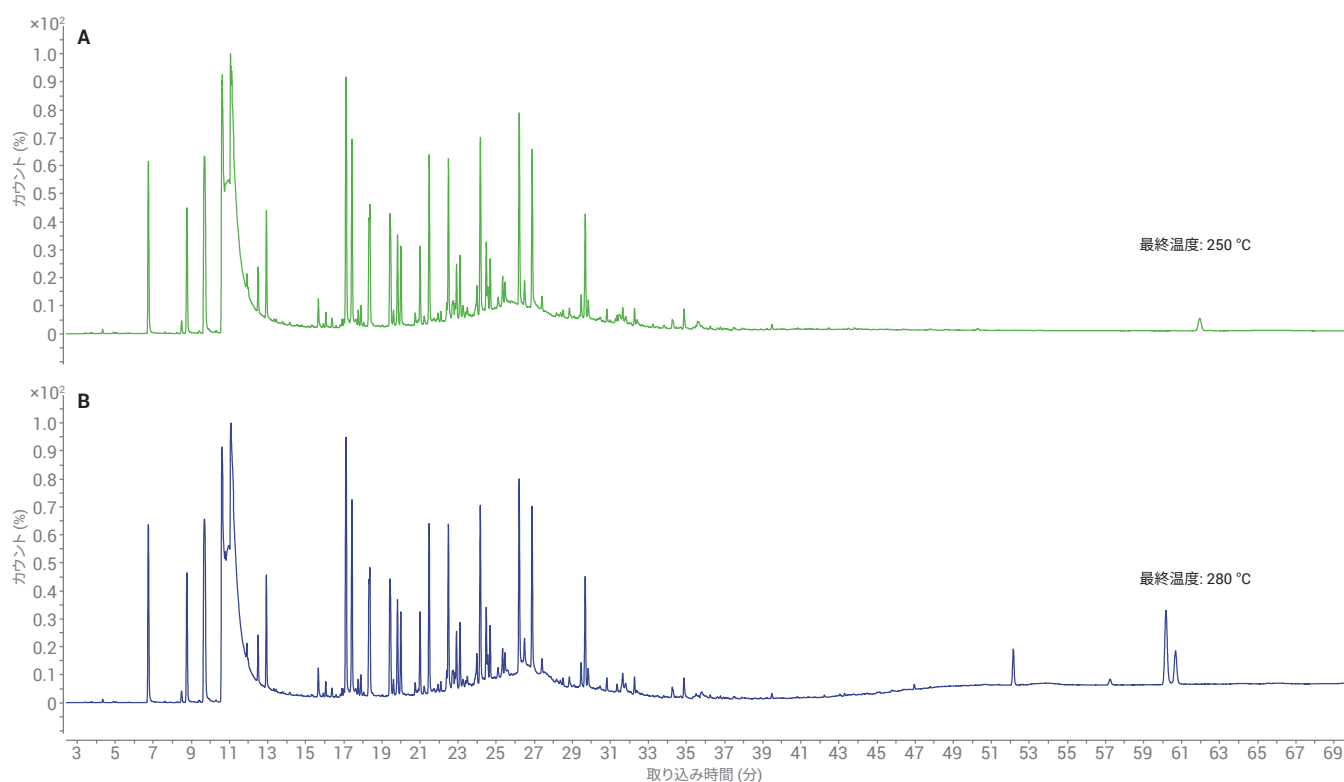


図 1. Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて、最終オープン温度を 250 と 280 °C で分析したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルサンプルのクロマトグラム

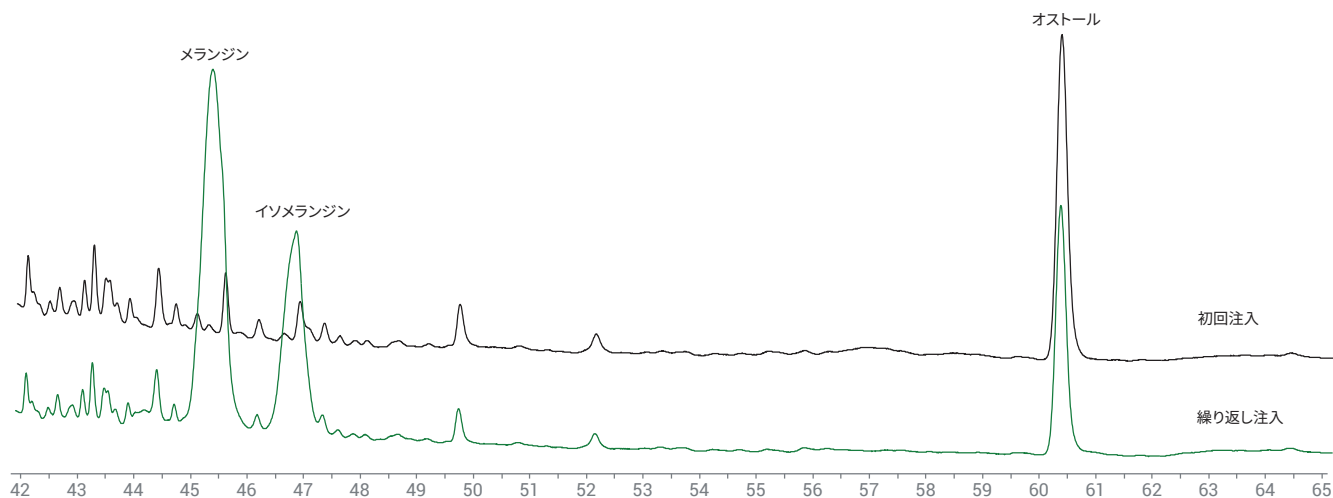


図 2. 最終オープン温度 250 °C で 30 分間保持し、繰り返し注入した場合のピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルサンプルのキャリーオーバー

図 3 に、低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルを MAOT の高い DB-HeavyWAX カラムで分析し、質量分析で同定した 5 種類の芳香族化合物を示します。

図 4A と 4B は、最大使用温度が 250/260 °C の従来の WAX カラムについて、その MAOT を超えた温度で分析した場合の難点を示したものです。図 4A は、低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルのサンプルを他社製の従来の WAX カラムに注入し、最終温度

280 °C で分析した結果です。MAOT を超える温度で長時間分析した場合の従来の WAX カラムの分離能と熱安定性について検証するために、4 種類の良好に分離されたピークを選んで同定しました。

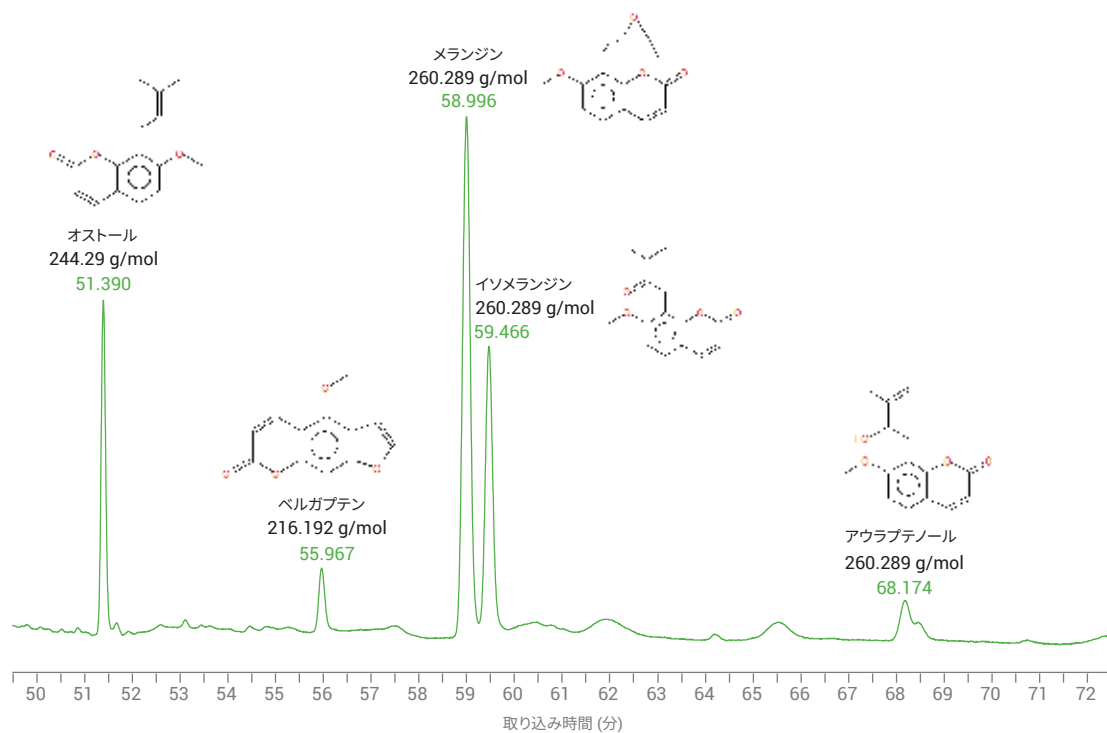


図 3. 最終オープン温度 280 °C で溶出したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルに含まれる高分子量の化合物。これらの化合物は質量分析により同定しました。

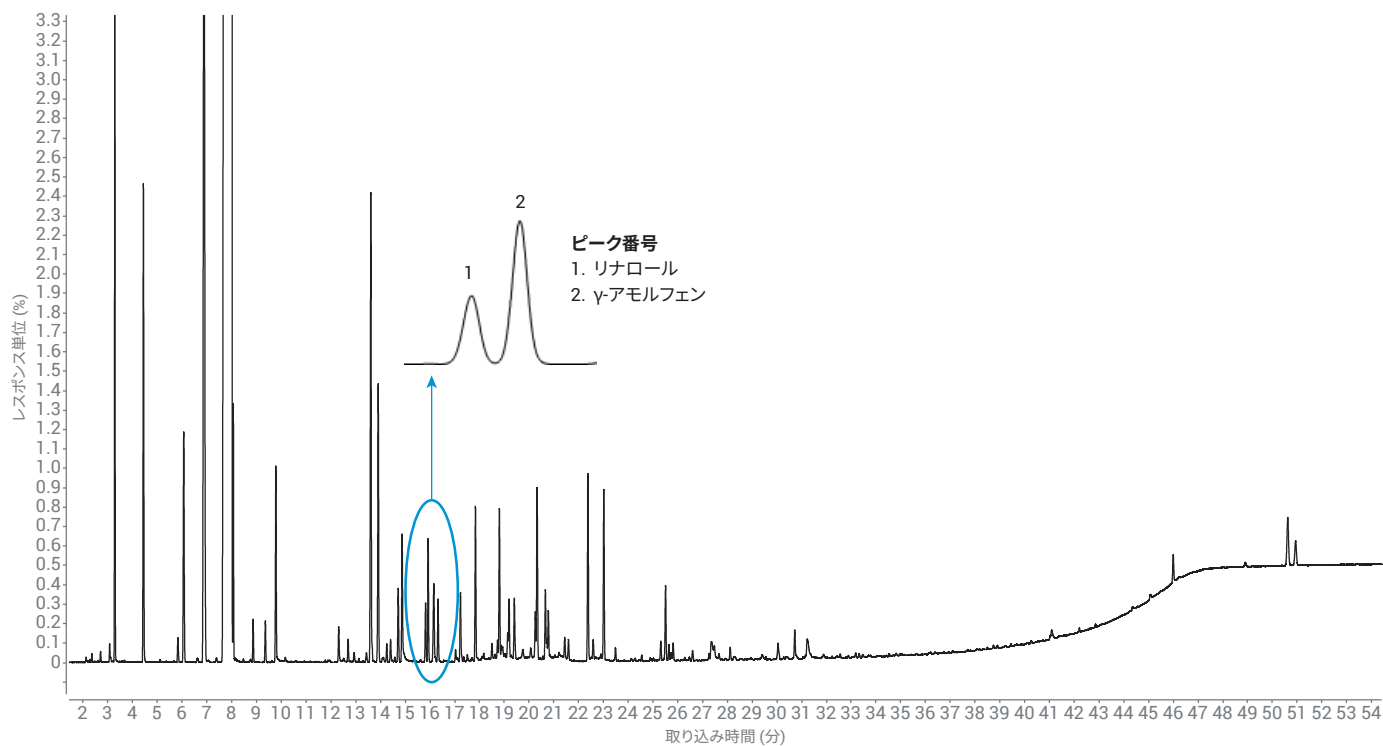


図 4a. 他社製の WAX カラムを用いて、最終オープン温度 280 °C で分析したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルサンプルのクロマトグラム

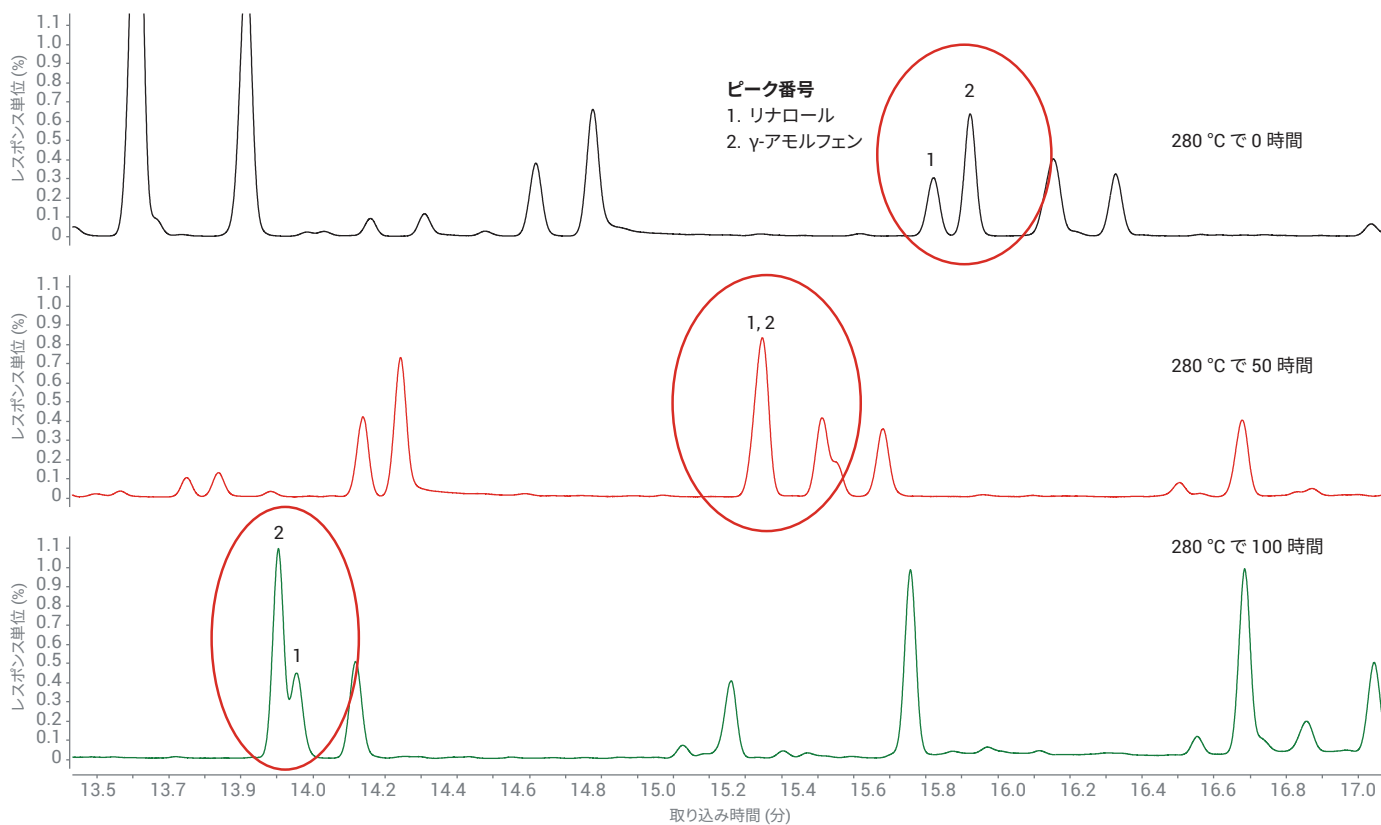


図 4b. 他社製の WAX カラムを用いて、280 °C で 100 時間まで分析したピンクグレープフルーツエッセンシャルオイルサンプルのクロマトグラム

図 4A と 4B では、ピンクグレープフルーツエッセンスオイルの初回注入時と 280 °C での使用時間が 0 時間の場合、2 種類のピーク、リナロールと γ -アモルフェン (質量分析により確認) が完全に分離していることが示されています。280 °C で 50 時間使用した場合は、ピークのリテンションタイムが短くなり、さらにリナロールと γ -アモルフェンが共溶出しています。280 °C で 100 時間使用した場合は、リテンションタイムが大きくシフトし、共溶出や、リナロールと γ -アモルフェンのピーク位置の変化も示されています。

図 4B で見られたリテンションタイムのシフトにより、他社製の WAX カラムの固定相は 280 °C で繰り返し用いると大きく損傷することが示されました。この固定相の損傷は、温度プログラムの異なる位置に 4 種類の化合物が溶出される原因となり、溶出順序の変化にもつながります。

図 5 は、長時間にわたり高い温度で分析した場合の DB-HeavyWAX カラムの優れた熱安定性を示したものです。280 °C で 100 時間使用した後も、DB-HeavyWAX カラムでの溶出順序は同じですが、他社製の WAX カラムでは溶出順序が変わります。高温による長時間の分析でも溶出順序が安定していることから、DB-HeavyWAX カラムの熱安定性の高さが示されました。

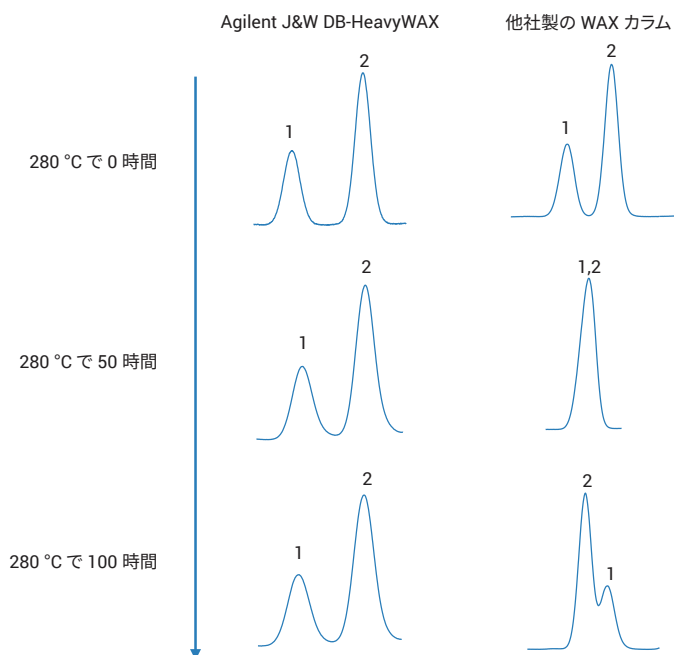


図 5. Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムと他社製の従来の WAX カラムを用いて、280 °C で 100 時間まで分析した場合の固定相の熱安定性の比較

図 6 に、最終オープン温度 250 °C で DB-WAX カラムと DB-HeavyWAX カラムを用いて、低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンスオイルの同じサンプルを分析した結果を示します。60 分後に最後のピークが溶出されるまで、250 °C で保持しました。低温圧搾したピンクグレープフルーツエッセンスオイルを分析した結果、DB-WAX カラムと DB-HeavyWAX カラムは同じ選択性を示しています。

結論

Agilent DB-HeavyWAX カラムは広い温度範囲で分析できます。広い温度範囲により、低温圧搾した柑橘系のエッセンスオイルに含まれる沸点の高い化合物について、サンプル間のキャリーオーバーをなくし、高い再現性での分析が可能になります。従来の WAX カラムは温度上限が低く、長時間、280 °C のような高い温度で安定したリテンションタイムを維持することができません。温度上限が高くなったことから、DB-HeavyWAX カラムは

280 °C で 100 時間保持した後も熱安定性が高いままです。また、DB-HeavyWAX カラムは DB-WAX カラムと同じ選択性を持っています。したがって、DB-WAX カラムを DB-HeavyWAX カラムに変更する際、簡単にメソッド変換ができます。また DB-HeavyWAX カラムには、定温時で 280 °C、プログラムされた場合 290 °C と、温度上限が高いという利点があります。

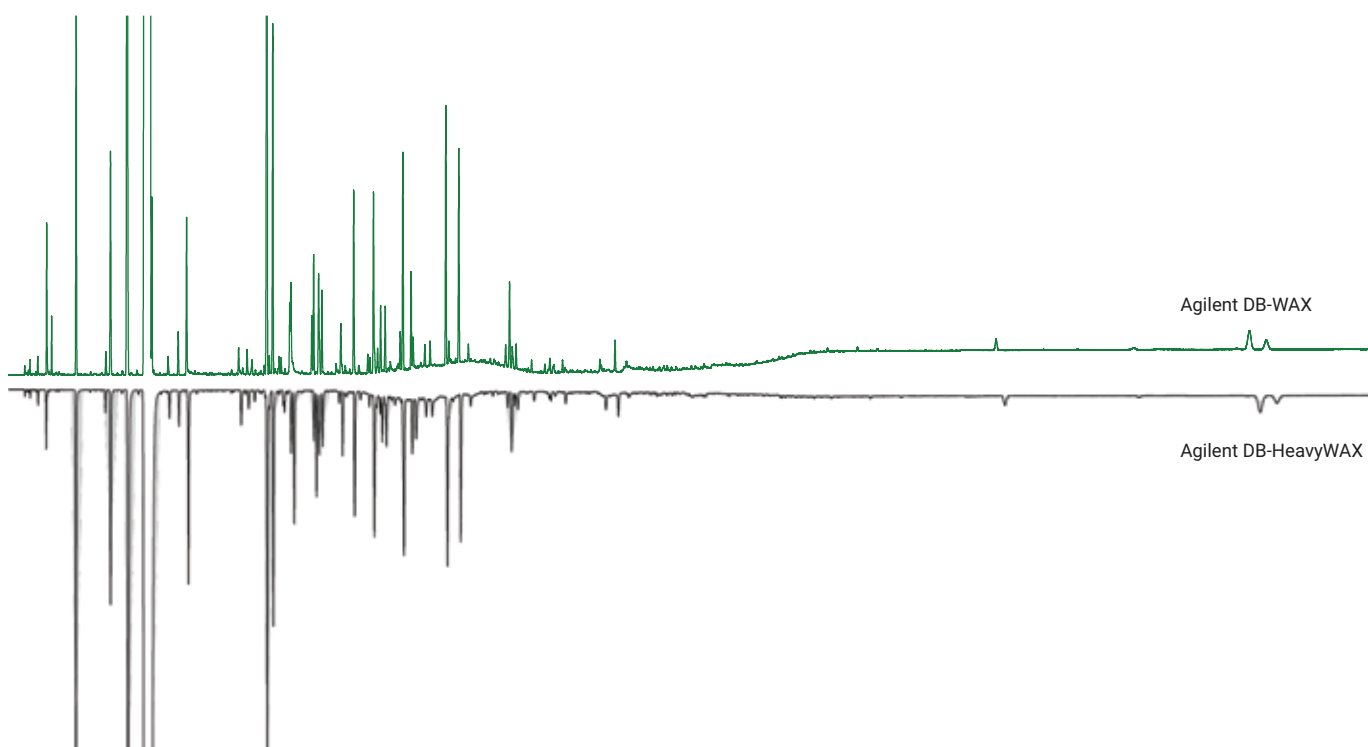


図 6. ピンクグレープフルーツエッセンスオイルの分析で実証されたように、Agilent J&W DB-WAX カラムは Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムと同等の選択性を示しています。

参考文献

1. <https://naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/how-are-essential-oils-extracted>, Accessed 8 January **2018**.
2. Lin, J.; Rouseff, R. L. Characterization of aroma-impact compounds in cold-pressed grapefruit oil using time-intensity GC-olfactometry and GC-MS. Flavor and Fragrance Journal **2001**, 16, 457-463.
3. Abercrombie, V.; Provoost, L. 「Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムの熱安定性および最高温度の向上」 Agilent Technologies Application Note, publication number 5991-9035JAJP, **2018**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

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。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Printed in Japan, February 28, 2018

5991-9078JAJP