

## GC-FID による香料サンプルの品質管理： Agilent 7890 GC から Agilent Intuvo 9000 GC へのメソッド移管

### 著者

Frank David, Tatiana Cucu,  
and Christophe Devos  
Research Institute for  
Chromatography  
Pres. Kennedypark 26,  
B-8500 Kortrijk, Belgium  
Rebecca Veeneman, Ph.D.  
Agilent Technologies, Inc.

### 概要

エッセンシャルオイル、香料、香水の品質管理では一般的に、GC-FID 分析が用いられます。重要な GC 性能の基準は、分離能、リテンションタイムとインデックスの安定性、サンプルスループットです。このアプリケーションノートでは、Agilent 7890 GC で開発したリファレンスマETHODの Agilent Intuvo 9000 GC への移管を、代表的な香料とエッセンシャルオイルのサンプルで得られたデータの比較を用いて説明します。Intuvo 9000 GC でもデータの質は変わらずに保たれており、短いナローボアカラムカラムの使用によりサンプルスループットの向上が可能になることが示されました。

## はじめに

香料および香料業界での品質管理 (QC) には一般的にガスクロマトグラフィー (GC) が使用されます<sup>1, 2</sup>。フィンガープリント分析および R&D には GC と質量分析法 (MS) の組み合わせがよく使用されます。しかし、QC 環境では GC-FID 分析メソッドが最適です<sup>3</sup>。エッセンシャルオイル、香水、フレグランスオイルの製品サンプルで得られた GC-FID プロファイルは、承認済みサンプルの既知の組成の参照プロファイルと比較されます。相対サンプル組成 (面積 %) と、汚染物または不純物の存在の両方が検証されます。偽造および原産地の真正性は、マーカ化合物の存在、欠落、相対濃度を基に管理できます。

香料は、エッセンシャルオイルと合成香料化合物の混合物で構成されるため、これらの製品の多くには 100 種類以上の化学成分が含まれています。このため、正確なプロファイリングを得るには、高分離能 GC メソッドが必要です。最も重要なシステム適合性基準は、クロマトグラフィー分離能と、リテンションタイムまたはリテンションインデックス (RI) の再現性です<sup>4</sup>。QA/QC 環境では、生産性とサンプルスループットも重要で、GC 分析時間の短縮のために複数の手法が用いられます。スループットを高める手法には、短いナローボアカラム、水素キャリアガス、高速の温度設定プログラムの適用などがあります。しかし、適切なクロマトグラフィー分離能を維持しなければなりません<sup>5</sup>。

香料とエッセンシャルオイルは、個々の溶質の濃度が幅広いことも特徴で、1 ~ 50 % という高濃度の成分もあれば、0.01 ~ 0.1 % の低濃度の溶質もあります。香料の品質には、こうした微量化合物が重要になる場合もあるため、広いダイナミックレンジを持つ高分離能 GC メソッドを用いるとともに、溶質容量が十分な GC カラムを選択する必要があります。

したがって、香料、香水、エッセンシャルオイルの QA/QC 用の高性能 GC-FID メソッドは、クロマトグラフィー分離能、分析速度 (サンプルスループット)、溶質容量 (感度) のバランスを取ることが基本となります。このバランスは、内径 150 ~ 250  $\mu\text{m}$  のカラムと水素キャリアガスを使用した最先端の GC カラム技術によって達成できます。最先端の GC 機器と組み合わせることで、高速の昇温および冷却サイクルが実現し、メソッド性能を維持しつつ、生産性向上が可能になります。

このアプリケーションノートでは、Intuvo 9000 GC を用いた代表的な香料およびエッセンシャルオイルサンプルの GC 分析について説明します。7890 GC において標準メソッドでサンプルを分析してから、メソッドを Intuvo 9000 GC に移管しました。さらに、Intuvo 9000 GC の高速昇温機能を活用し、分析速度を 2 倍から 4 倍に向上させるためにメソッド変換を適用しました。

## 実験方法

### サンプル前処理

フレグランスオイルは家庭用品メーカーから購入し、2 種類のエッセンシャルオイルサンプルは地域のドラッグストアで購入しました。市販の香水サンプルは香水店で購入しました。各サンプルはアセトンで希釈し、濃度は最初の希釈度に応じて、主に 25 ~ 100 mg/mL としました。洗剤や表面クリーナーなどの家庭用品の製造で 사용되는フレグランスオイルは、100 以上の成分を持つ非常に複雑なものです。GC 分析用に、このフレグランスオイルを 40 倍 (アセトンで 2.5 %) に希釈しました。市販の香水サンプルは中程度の複雑さであり、アセトンで 10 倍に希釈しました。

エッセンシャルオイルサンプルは、リモネンを主成分とするレモンオイル (原産: 米国、カリフォルニア州) と、セスキテルペン類を主成分とする複雑なサンダルウッドオイルです。エッセンシャルオイルサンプルはアセトンで 5 % に希釈しました。

これらのエッセンシャルオイルサンプルは、機器とメソッドの検証にのみ使用し、完全な特性評価や、原産地、品質、組成の検証は実施していません。

### GC パラメータ

GC-FID 分析は 7890B GC と Intuvo 9000 GC で実施しました。両方のシステムに、スプリット/スプリットレス注入口、水素炎イオン化検出器を搭載し、10  $\mu\text{L}$  シリンジ付き Agilent 7693 オートサンプラ (ALS) を組み合わせました。

リファレンスメソッドでは、Agilent J&W DB-HeavyWAX カラム (30 m × 0.25 mm、0.25 μm) を使用しました。この極性カラムは、従来の PEG カラムや WAX カラムよりも熱安定性が高く、ヘプタン (RI 700) とトリアコンタン (RI 3,000) との間で溶出する香料成分の分析に特に適しています。表 1 に、リファレンスメソッドのパラメータをまとめています。

分析時間をそれぞれ 1/1.79 倍と 1/4.27 倍に短縮できる 2 つのハイスループットメソッドを Intuvo 9000 GC で使用しました。表 2 に、メソッド変換ソフトウェア (収集およびデータ分析に使用した Agilent OpenLab 2.2 ソフトウェアの一部) を使用して得られたメソッドパラメータを示します (変更されなかったパラメータはリストに挙げていません)。

## 結果と考察

### 7890 GC から Intuvo 9000 GC へのメソッド移管

図 1A と 1B は、それぞれ 7890 GC および Intuvo 9000 GC でリファレンスメソッドを使用して分析した結果を示しています。両方の機器で、クロマトグラフィー分離能が維持され、同じプロファイルが得られることがわかります。選択されている成分について、RI とピーク面積 % (溶媒ピークを除去した後に正規化) を各機器で測定しました。表 3 に、測定結果をまとめています。両方の機器で RI 値が同一となる (デルタ RI <2 RI 単位) ことが示されています。これは異なる機器で収集されたデータを比較する場合に重要です。また、Intuvo 9000 GC に搭載されたガードチップが相対溶質リテンションに影響を与えないことが示されています。表 3 の相対面積 % データは、両方の機器で同等の定量結果が得られることを示しています。

表 1. Agilent 7890 GC および Agilent Intuvo 9000 GC でのリファレンスメソッドの GC-FID パラメータ

パラメータ	設定値
注入口	スプリット (1/50)、250 °C、スプリットライナ UI (p/n 5190-2295)
注入量	1 μL
カラム	Agilent J&W DB-HeavyWAX、30 m × 0.25 mm、0.25 μm (p/n 122-7132 または 122-7132-INT)
カラム流量	1.8 mL/min、水素、定流量
カラム温度プログラム	50 °C (1 分)、5 °C/min で昇温、250 °C (10 分)
Intuvo ガードチップ温度	オープントラックモード
Intuvo バス温度	250 °C
Intuvo 検出器テール	300 °C
検出器	水素炎イオン化、300 °C、40 mL/min 水素、400 mL/min 空気

表 2. Agilent Intuvo 9000 GC のハイスループット GC-FID パラメータ

分析時間 1/1.79 倍	
パラメータ	設定値
カラム	Agilent J&W DB-HeavyWAX、20 m × 0.18 mm、0.18 μm (p/n 121-7122)
カラム流量	1.3 mL/min、水素、定流量
カラム温度プログラム	50 °C (0.56 分)、8.93 °C/min で昇温、250 °C (5.6 分)
分析時間 1/4.27 倍	
パラメータ	設定値
カラム	Agilent J&W DB-HeavyWAX、10 m × 0.18 mm、0.18 μm (p/n 121-7112)
カラム流量	1.3 mL/min、水素、定流量
カラム温度プログラム	50 °C (0.23 分)、21.37 °C/min で昇温、250 °C (2.34 分)

表 3. Agilent 7890 GC および Agilent Intuvo 9000 GC でリファレンスメソッドで測定したフレグランスオイル成分の RI とピーク面積 %

化合物	Agilent 7890 GC		Agilent Intuvo 9000 GC	
	RI	面積 %	RI	面積 %
酢酸リナリル	1,559	4.02	1,559	3.92
酢酸イソボルニル	1,579	3.12	1,579	3.04
酢酸ベンジル	1,699	2.22	1,699	2.14
酢酸ジメチルベンジルカルビニル	1,764	3.47	1,765	3.43
α-イソメチルイオン	1,843	2.70	1,841	2.71
フェニルエチルアルコール	1,898	3.59	1,897	3.55
トランス-β-イオン	1,921	4.70	1,921	4.71
β-メチルイオン	2,039	7.86	2,038	7.75
n-ヘキシルサリチル酸塩	2,194	2.87	2,193	2.86
アミルシンナムアルデヒド	2,237	3.38	2,236	3.42
4-ヘキセニルベンゼン	2,293	2.76	2,293	2.85
2-シクロヘキシリデン-2-フェニルアセトニトリル	2,516	1.93	2,518	1.95
サリチル酸ベンジル	2,753	2.32	2,751	2.37

両システムの同等性が、サンダルウッドオイルサンプルの分析によって示されました。サンダルウッドオイルは、さまざまな種類の白檀（サンタルムアルバムやサンタルムスピカタムなど）の木片を水蒸気蒸留することによって得られます。サンダルウッドオイルの主成分はセスキテルペンアルコール類で、 $\alpha$ -サンタロールおよび $\beta$ -サンタロールを含有しています。オイルの組成は木の種類、場所、樹齢、季節、抽出プロセスに依存します。真正性およびQC検証では、サンタロール異性体やその他のセスキテルペノイドの相対濃度を使用しました<sup>6</sup>。

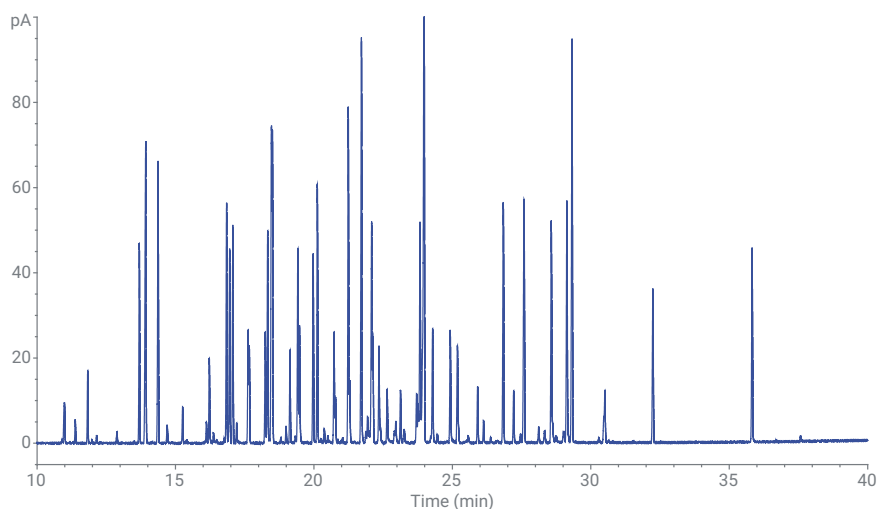


図 1A. Agilent 7890 GC と 30 m × 0.25 mm、0.25  $\mu$ m Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施したリファレンスメソッドによる、フレグランスオイルの GC-FID 分析

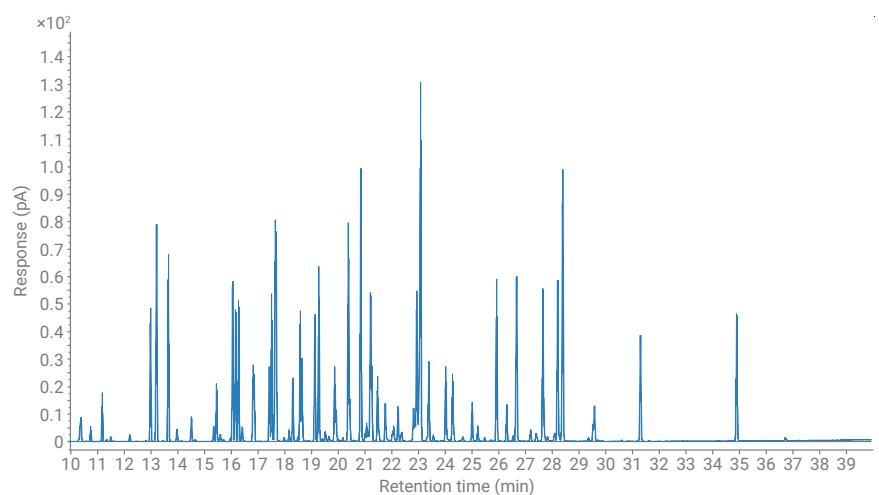


図 1B. Agilent Intuvo 9000 GC と 30 m × 0.25 mm、0.25  $\mu$ m Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施したリファレンスメソッドによる、フレグランスオイルの GC-FID 分析

図 2A と 2B はそれぞれ、市販のサンダルウッドオイルサンプルを 7890 GC と Intuvo 9000 GC で分析して得た GC-FID プロファイルを示しています。同様のプロファイルが示され、RI は 7890 から Intuvo へのメソッド移管の後も保持されています。

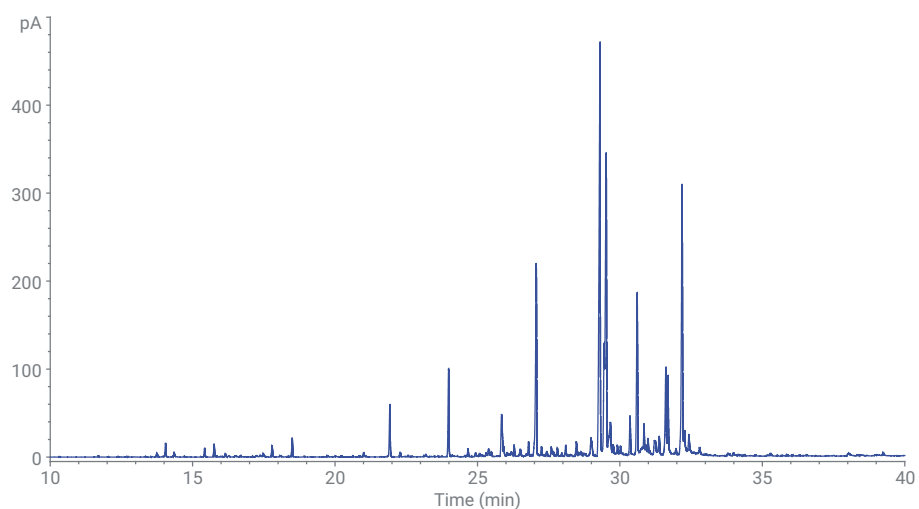


図 2A. Agilent 7890 GC と 30 m × 0.25 mm、0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施したリファレンスマETHODによる、サンダルウッドオイルの GC-FID 分析

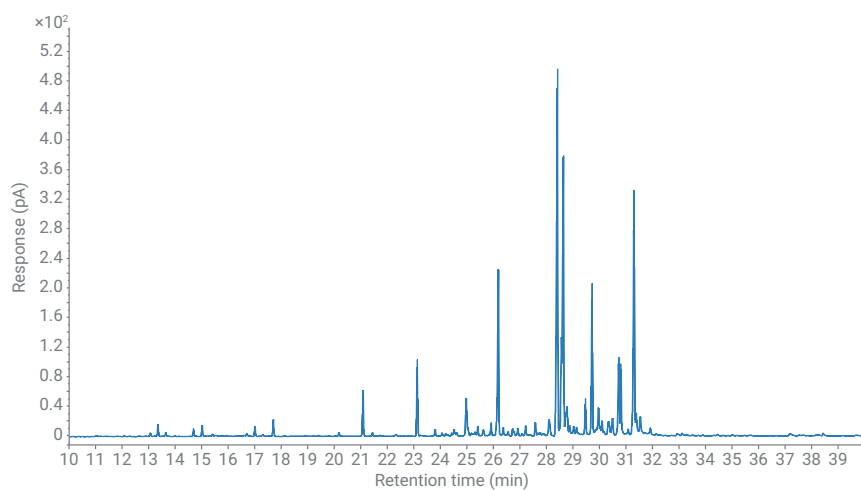


図 2B. Agilent Intuvo 9000 GC と 30 m × 0.25 mm、0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施したリファレンスマETHODによる、サンダルウッドオイルの GC-FID 分析

### 分離能を維持したメソッド変換

次に、30 m × 0.25 mm、0.25 μm DB-HeavyWAX カラムによるリファレンスメソッドを、20 m × 0.18 mm、0.18 μm DB-HeavyWAX カラムによるメソッドに変換しました。内径がより小さく、長さが短いカラムを使用することで、クロマトグラフィー分離能を維持したまま GC 分析時間を短縮できました<sup>5</sup>。OpenLab GC ソフトウェアに組み込まれているメソッド変換カリキュレータを使用し、より高速な GC メソッドのメソッドパラメータを算出しました。カリキュレータは、分析時間の 1/1.79 倍の短縮のを予測しました。

市販の香水サンプルの分析によって、メソッド変換を示します。図 3A と 3B はそれぞれ、30 m × 0.25 mm、0.25 μm DB-HeavyWAX カラムと 20 m × 0.18 mm、0.18 μm DB-HeavyWAX カラムを使用した場合の GC-FID プロファイルを示しています。

2 つのプロファイルは類似しており、クロマトグラフィー分離能が維持されています。リファレンスメソッドを 30 m カラムで使用した場合に最後のピークが 36.85 分に溶出するのに対して、変換メソッドを 20 m カラムで使用した場合は最後のピークが 21.15 分に溶出します。実際の分析時間（リファレンスメソッドの 1/1.74 倍）は、予測された分析時間（リファレンスメソッドの 1/1.79 倍）に非常に近い値です。さらに、各ピークの RI も 10 LRI 単位内と非常に類似しており、極性 WAX カラムを使用したことを考慮すると、十分に許容できるものです。<sup>4</sup>

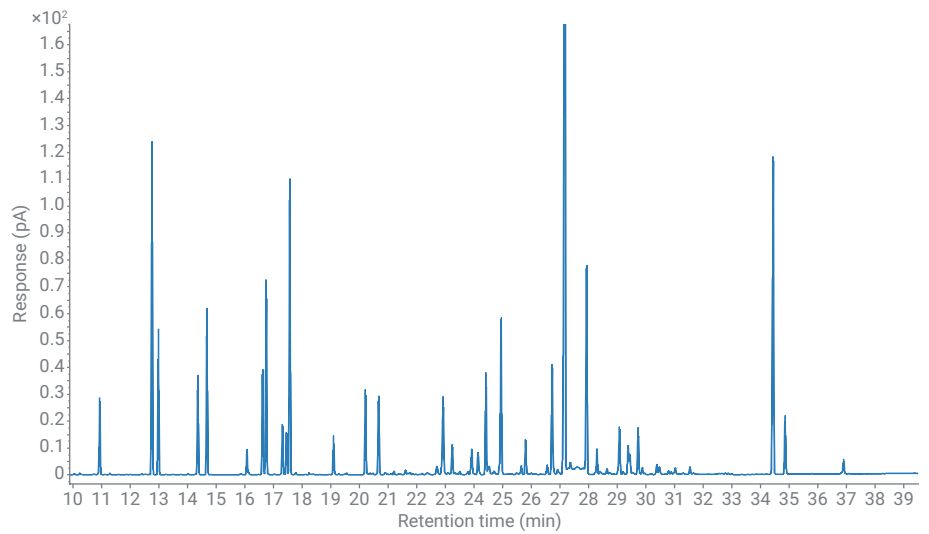


図 3A. Agilent Intuvo 9000 GC と 30 m × 0.25 mm、0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施したリファレンスメソッドによる、香水の GC-FID 分析

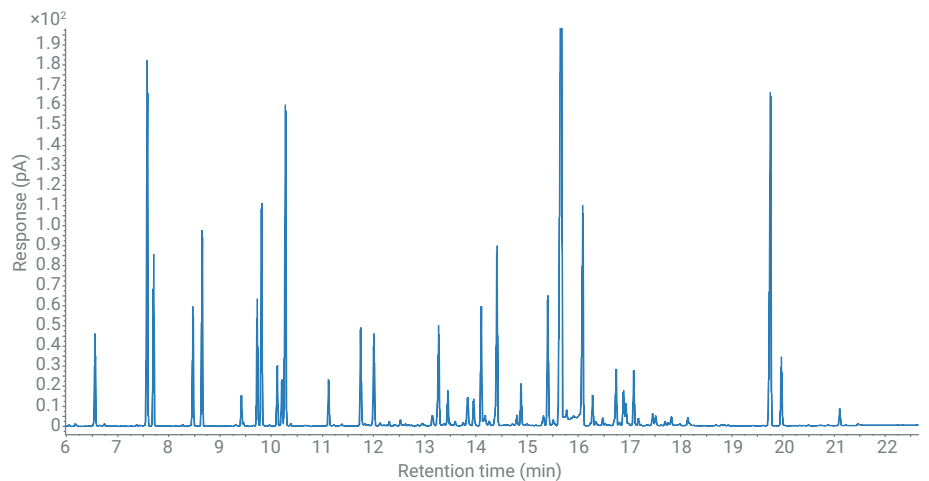


図 3B. Agilent Intuvo 9000 GC と 20 m × 0.18 mm、0.18 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施した変換メソッドによる、香水の GC-FID 分析

## 分離能低下を伴う高速 GC への メソッド変換

最後に、レモンオイルサンプルの分析にハイスルーブットスクリーニングメソッドを使用しました。図 4A に、30 m × 0.25 mm、0.25 μm DB-HeavyWAX カラムを使用して 7890 GC で得られたリファレンスプロファイルを示します。図 4B は、10 m × 0.18 mm、0.18 μm DB-HeavyWAX カラムを使用して Intuvo 9000 GC で同じサンプルを分析して得られたプロファイルを示します。ハイスルーブットメソッドでのこのメソッドパラメータは、メソッドトランスレータを使用して算出したもので、分析時間を 1/4.27 倍に短縮すると予測されました。表 4 に、主要な各ピークの同定結果と、測定した RI およびピーク面積 % (溶媒ピークの除去後に正規化) を示します。

図 4A と 4B に示された GC-FID プロファイルは非常に類似しています。α-ピネン/α-ツジエン (図 4B の高速 GC メソッドでの 0.69 分) および β-ピサボレン/ゲラニアル (図 4B の高速 GC メソッドでの 2.50 分) の分離の喪失によって示されるように、短いカラムを使用するとクロマトグラフィー分離能が低下します。β-ミルセン、*p*-シメン、ネラル、ゲラニアル、β-ピサボレンなどの重要な品質マーカーを含む他の大半の溶質では、十分なクロマトグラフィー分離能が維持され、正しい定量が可能でした<sup>7</sup>。ゲラニアルは、リファレンスメソッドを使用して 10.47 分に溶出し、10 m カラムの使用時に高速 GC メソッドを Intuvo 9000 GC で使用して 2.51 分でした。分析時間はリファレンスメソッドの 1/4.17 倍であり、これは予測された分析時間に非常に近い値です。GC 分析時間は 3 分で、サイクル時間が 5 分以内となりました。

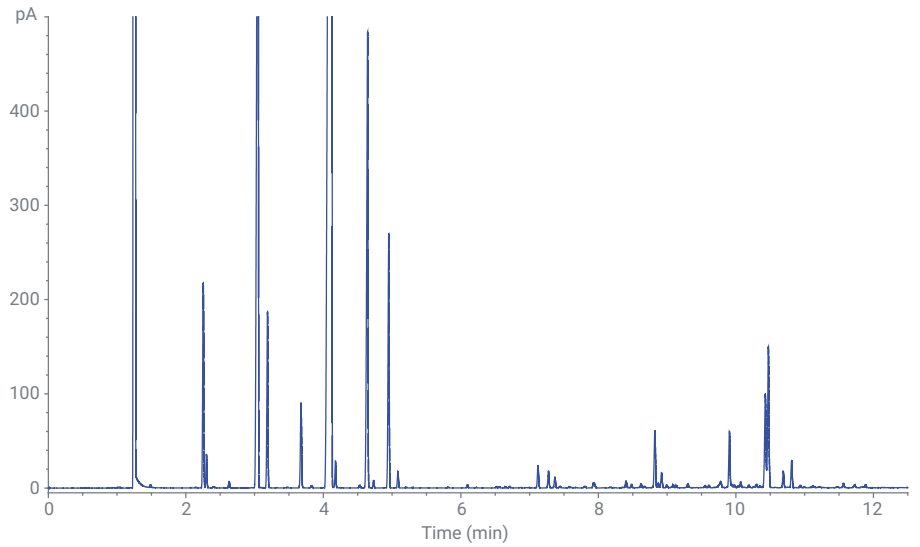


図 4A. Agilent 7890 GC と 30 m × 0.25 mm、0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施したリファレンスメソッドによる、レモンオイルの GC-FID 分析

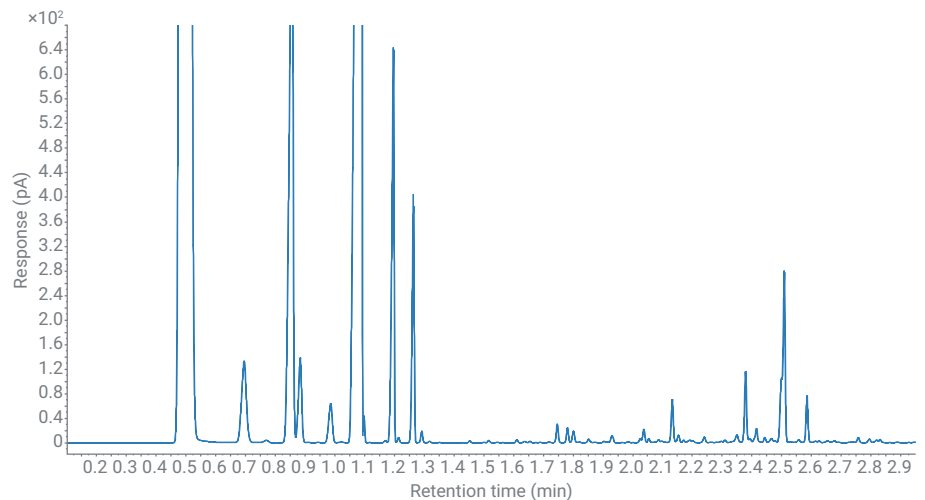


図 4B. Agilent Intuvo 9000 GC と 10 m × 0.18 mm、0.18 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX カラムを用いて実施した変換メソッドによる、レモンオイルの GC-FID 分析

選択した内径 180  $\mu\text{m}$  のカラムによって、十分な溶質容量も得られ、豊富なりモネン（リモネンの相対濃度 = 60 %）のピークでの過剰なピークフロンティングやオーバーロードを回避できます。カラム径をさらに小さくすると（例えば、内径 100  $\mu\text{m}$  のカラム）、注入量の削減、またはスプリット比の上昇が必要となり、少量の溶質の検出能の喪失の可能性、精度の低下、堅牢性の低下を伴います。このため、内径 150 ~ 180  $\mu\text{m}$  のカラムが、分離能と分析速度と定量の観点から最良の選択肢と考えられます。

## 結論

香料、香水、エッセンシャルオイルの品質を管理するための高分離能 GC-FID メソッドは、クロマトグラフィーのプロファイルと分離能、RI、面積 % を維持したまま Agilent 7890 GC から Agilent Intuvo 9000 GC へと移管できます。長さと同径の比がリファレンスカラムと類似する場合は、より短いナローボアカラムを使用すると、クロマトグラフィー分離能を維持したまま、GC 分析時間を半分に短縮できます。より短い GC カラムを使用し、Intuvo 9000 GC の高速昇温および冷却機能を活用して、サンプルスループットをさらに向上させて、5 分のサイクル時間で高速スクリーニングメソッドを実現できます。

ホームページ

[www.agilent.com/chem/jp](http://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](mailto: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. 2020  
Printed in Japan, January 15, 2020  
5994-1382JAJP  
DE.4517708333

表 4. Agilent 7890 GC でのリファレンスメソッドおよび Agilent Intuvo 9000 GC での高速 GC メソッドで測定したレモンオイル成分の RI とピーク面積 %

化合物	Agilent 7890 GC リファレンスメソッド			Agilent Intuvo 9000 高速メソッド		
	RT(分)	RI	面積 %	RT(分)	RI	面積 %
$\alpha$ -ピネン	2.25	1021	2.78	0.69	1021	2.82
$\alpha$ -ツジエン	2.30	1027	0.65	0.69	1021	—
$\beta$ -ピネン	3.05	1109	16.40	0.85	1107	16.63
サビネン	3.19	1120	2.09	0.88	1119	2.11
$\beta$ -ミルセン	3.68	1165	1.13	0.98	1167	1.19
リモネン	4.12	1204	59.43	1.08	1200	60.65
$\gamma$ -テルピネン	4.64	1243	6.52	1.19	1241	6.65
<i>p</i> -シメン	4.95	1267	3.08	1.26	1266	3.16
ネラール	9.91	1683	0.83	2.38	1679	0.81
$\beta$ -ピサボレン	10.43	1720	1.34	2.50	1718	1.40
ゲラニアル	10.47	1725	2.00	2.51	1722	2.13

## 参考文献

- van Asten, A. The Importance of GC and GC-MS in Perfume Analysis, *Trends Analyt. Chem.* **2002**, 21, 698-708.
- Chisvert, A. *et al.* Chapter 10: Perfumes in Cosmetics: Regulatory Aspects and Analytical Methods. In *Analysis of Cosmetic Products* (Second Edition); Salvador, A.; Chisvert, A., Eds., Elsevier, 2018, pp 225-248, ISBN 9780444635082.
- Cachet, T. *et al.* IOFI Recommended Practice For The Use Of Predicted Relative - Response Factors For The Rapid Quantification Of Volatile Flavoring Compounds by GC - FID, *Flavor Fragr.J.* **2016**, 31, 191-194.
- d' Acampora Zellner, B. *et al.* Linear Retention Indices In Gas Chromatographic Analysis: A Review, *Flavor Fragr.J.* **2008**, 23, 297-314
- David, F. *et al.* Instrumentation and applications of fast high-resolution capillary gas chromatography, *J. Chrom.A* **1999**, 842, 309-319.
- ISO 3518: 2002E, Oil of sandalwood (*Santalum album* L.), International Organization for Standardization.
- ISO 855:2003, Oil of lemon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.], International Organization for Standardization.