

使用带有 LTM 柱箱模块的独立柱温控制的二维气相色谱分析香水中可疑的香料香味过敏原

应用说明

食品和香料

作者

Frank David
色谱研究中心
Pres. Kennedypark 26, B-8500 Kortrijk
比利时

Matthew S. Klee
安捷伦科技有限公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

摘要

按照欧盟 2003/15/EC 指令, 采用几种不同的 GC/MS 分析方法, 测定原料和化妆品中的香料和香味过敏原。对复杂香水而言, 目标化合物可能与其他溶质一起流出, 推荐使用配置中心切割的二维气相色谱。

在这篇应用中, 介绍了一个配置 Deans switch 中心切割和低热容(LTM)柱模块的 GC/MS 多维毛细管气相色谱方法, 以优化分离和定量分析复杂样品中的控制过敏原。方法用于测定含有几个控制过敏原的香水样品。通过 LTM 柱模块, 第二根柱的温度就可与主柱温箱中第一根柱的温度单独控制。50 °C 下, 将过敏源中心切割到 LTM, 经过富集, 然后在独立的温度程序下分离, 对样品基质中目标化合物能得到最优的选择性和更好的分离度。



Agilent Technologies

前言

近来欧洲规定要求对香味产品中的过敏原化合物进行控制[1]。目标化合物包括一些常见的有机化合物，如柠檬油精，柠檬醛和肉桂醛。这些天然产物中的化合物会刺激敏感皮肤。按照规定，化妆品需要在其标签上标明所含的过敏原物质浓度是否在规定的浓度之上(在涂敷类产品中不高于 10 ppm，在冲洗类产品中不超过 100 ppm)。因此，需要开发有效的方法对这些复杂基质中的目标化合物进行定性定量。

正式的目标化合物目录包括 24 种化合物。其中一些包含不止一个化学特性。柠檬醛有两个异构体：橙花醛(Z 柠檬醛)和香叶醛(E 柠檬醛)。Lyrall 也有两个异构体：3- 和 4- (4-羟基-4-甲基戊基)-3-环己烯-1-羧基乙醛)。金合欢醇至少包含四个可能异构体，其中 Z,E (金合欢醇 1) 和 E,E 异构体 (金合欢醇 2) 为主要需要检测的化合物。此外，还需监控一些相关化合物，如苯乙醛，草蒿脑，甲基 2-nonynoate，和甲基丁香油酚 [2]。一共要分析 31 个目标化合物。溶质的列表见表 1，一维分离见图 1。

表 1. 按在安捷伦 J&W HP-5MS 柱上的流出顺序列出的目标过敏原

峰号	化合物
1	柠檬油精
2	苯甲醇
3	苯乙醛
4	芳樟醇
5	Estragol
6	Methyl 2-octynoate (= folione)香茅醇
7	橙花醛
8	Neral
9	香叶醇
10	香叶醛
11	肉桂醛
12	大茴香醇
13	羟基香茅醛
14	Methyl 2-nonynoate (methyl octane carbonate)
15	肉桂醇
16	丁子香酚
17	甲基丁子香酚
18	香豆素
19	异丁子香酚
20	α -异甲基紫罗(兰)酮
21	Lilial (BMHCA)
22	戊基肉桂醛
23	Lyrall 1
24	Lyrall 2
25	戊基肉桂醇
26	金合欢醇 1
27	金合欢醇 2
28	己基肉桂醛
29	苯(甲)酸苄酯
30	苯甲基水杨酸酯
31	苯甲基肉桂酸酯

被测定目标化合物的基质范围非常广泛，包括天然精油，合成香料、香味化合物，天然产物萃取物和最终产品，如肥皂，发胶，沐浴露，口红，和其它化妆品。此外，这些基质中香味化合物的浓度范围非常宽（从高 ppb 级至百分级）。有一点非常明确，想用单一方法分析所有种类基质中的所有目标化合物是不可能的。因此我们建议将不同的基质归为四类[3]。对每一类，开发并确证专用的分析方法。采用一维 GC/MS 的“scan”模式[4]或“选择性离子监测(SIM)”模式直接进样一个稀释的样品分析，如果样品不复杂，分析物的浓度范围变化不大，不存在挥发性的样品基质，对含有在非极性柱上出峰顺序在十一烷(保留指数 1000)到二十二烷(保留指数 2200)之间组分的样品非常有效[2]。开发这样的分析方法可采用安捷伦 J&W HP-5MS (非极性)柱。条件和相应的锁定保留时间信息[5]以及可使用峰解卷积功能德的完整过敏原解卷积报告软件 (DRS) 数据库都可以在安捷伦科技网站上(www.agilent.com)查询的到。

对只含有挥发性或半挥发性的高度复杂样品 (> 100 组分) ,或组分浓度范围很宽的样品 (如：在很基质浓度很高化合物中，目标化合物的含量很低)，仅靠一维 GC 分离效果不高。对这些样品，使用二维毛细管气相色谱 (GC/GC, 2D GC) 进行分离效果很好[3]。采用多级中心切割可将目标化合物从一级非极性切至二级极性柱上，使目标化合物与干扰样品组分完全分离，即使在一维 GC/MS 数据解卷积失败的情况下，也能进行准确定量。

本文中，演示了如何采用微板流路控制技术 Deans switching 2D GC 分析复杂香水样品。为提高方法灵活性和分离能力，第二维柱可安装在低热容(LTM) 柱温模块内，以单独控制柱温。采用该配置，多级中心切割可富集在冷的第二维分析柱上，然后采用独立的温度程序，独立优化条件，使目标化合物与复杂样品基质达到最佳分离。

实验部分

用丙酮将香水样品稀释至 5% (50 mg/mL)。用丙酮将标准纯化合物稀释至 100 ng/ μ L。

采用 7890A GC/5975 MSD 联用仪, 进行样品分析。气相色谱配置 SSL 进样口, FID 检测器, 基于 Deans switching 系统 (部件号 G2855B) 的微板流路控制技术, PCM 流量模块 (选件#309), 和一个 LTM 系统控制包 (部件号 G6579A)。

如图 2 所示, 一级柱安装在 GC 柱箱内, 连接分流/不分流进样口和 Deans switch。调整 LTM 的柱子时, 需要“长管线”, 以便进样口末端能与 Deans switch 直接相连。柱子的出口靠近柱模块, 用安捷伦 Ultimate 接头 (部件号 G3182-61580) 将未涂层但去活的石英毛细管连接到 MSD 上。这种配置比柱子出口有较长的管线更易于转换方法的条件, 这是因为较长的管线 1 m 柱子延伸到 GC 柱箱内, 成为使峰展宽的等温 (第三个) 分离区, 可改变相对保留和 LTM 模块出口的分离度。在 Deans switch 的第二个输出和 FID 检测器间连接一个限流器 (未涂层但去活的保留间隙柱)。条件见表 2。

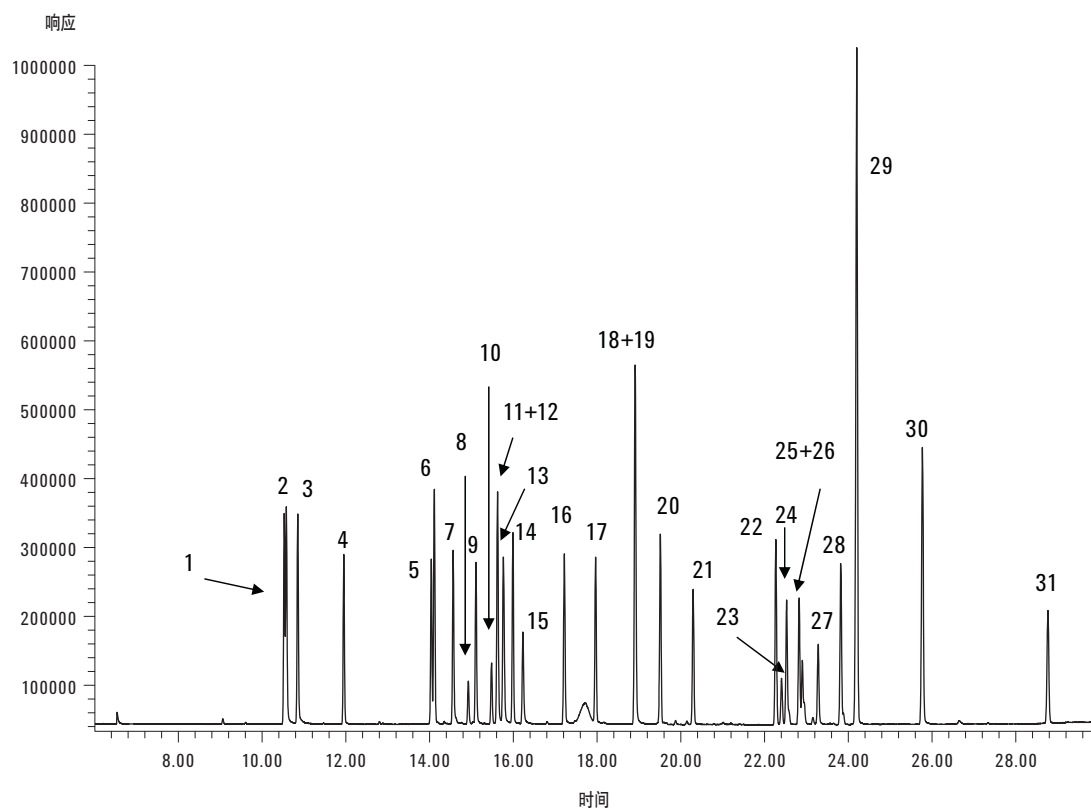


图 1. 香料和香味过敏原测试混合物(100 ppm)在一维柱 (Agilent J&W HP-5MS) 和 FID 检测器上的分离。峰的定性结果见表 1

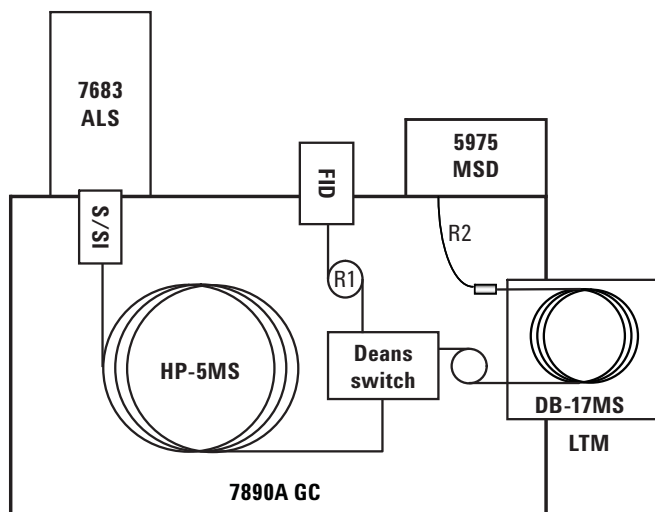


图 2. 系统配置

结果与讨论

首先,对浓度为 100 ng/ μ L 的所有目标化合物的标准混合样品进行分析。不使用中心切割技术。使用 J&W HP-5MS 柱和 FID 检测器进行分离的结果见图 2。得到了良好的分离。一些共流出对可通过质谱的解卷积(特殊离子)有效地分离,就像 DRS 方法一样。

接着,以相同的条件测定香水样品。从 FID 检测器得到的色谱图见图 3A,表明香水的基质非常复杂,难以测定目标化合物。一些目标组分,如芳樟醇(峰 4)和 α -异甲基紫罗兰酮(峰 20)完全分离,可进行测定。但是,从 22 到 24.5 分钟的流出窗,成分非常复杂。在这个窗口内,若干目标过敏原流出,包括戊基肉桂醛, lylral (两个异构

表 2. 分析条件

进样量	1.0 μ L
进样口	分流/不分流, 250 $^{\circ}$ C, 分流比 1:25
柱 1 (载气: 氦气)	30 m \times 内径 0.25 mm \times 0.25 μ m 安捷伦 J&W HP-5MS, 部件号 19091S-433 流量= 1.4 mL/min; 恒流模式 (185 kPa, 50 $^{\circ}$ C) 入口= SSL; 出口 = PCM1
柱 2 (LTM) (载气: 氦气) 流量 (PCM1)	30 m \times 内径 0.25 mm \times 0.25 μ m 安捷伦 J&W DB-17ms, 部件号 122-4732LTM with “长管线” (每端 1 m, 不包装)。第一次实验, 2 mL/min 恒流模式 (50 $^{\circ}$ C 下, 120 kPa)。第二次实验, 以 4.35 kPa/min 从 120 kPa (1 min) 升至 256 kPa (28 min)
限流器	R1 = 63 cm \times 内径 100 μ m 去活熔融石英管 (如从部件号 160-1010-5 切取) R2 = 1 m \times 内径 250 μ m 去活熔融石英管(部件号 160-2255-1)
GC	柱箱温度 50 $^{\circ}$ C (1 min)至 300 $^{\circ}$ C (27.75 min), 升温速率 8 $^{\circ}$ C/min 总运行时间= 60 min
LTM	柱箱温度 50 $^{\circ}$ C (25 min, 在最后一次切割完成后) 至 250 $^{\circ}$ C (1 min), 升温速率 6 $^{\circ}$ C/min (总运行时间= 60 min)
FID 监控检测器	300 $^{\circ}$ C, 30 mL/min H ₂ , 400 mL/min 空气
Deans switch 中心切割	初始 OFF Cut 1: ON at 10.2 min, OFF at 11.0 min Cut 2: ON at 15.3 min, OFF at 16.4 min Cut 3: ON at 22.0 min, OFF at 24.5 min
MS 数据采集	自动调谐, 扫描模式, 41–300 u, 样品= 2 ²
MSD 传输线	300 $^{\circ}$ C
MS 溶剂延迟	5 min
MS 温度	离子源=300 $^{\circ}$ C, 四极杆=150 $^{\circ}$ C

体), 戊基肉桂醇(相关杂质), 金合欢醇(两个异构体), 己基肉桂醛, 苯(甲)酸苄酯。在相同窗口内, 干扰的过敏原如二羟基茉莉酮酸甲酯, 紫罗(兰)酮和倍半萜烯流出物。多数上述化合物的具有很强的碎片质谱图, 产生许多非特定的低质量离子, 明显干扰目标离子谱图和离子比。因此采用传统的 SIM 数据或从 DRS 解卷积扫描数据, 检测和定量简单的样品非常有效, 对于这样复杂的样品就出现问题了。

例如采用简单方法, 确认上述样品中 lylal 的存在非常困难。采用 GC-SIM-MS, 不可能准确对 lylal 定量, 特征离子不会落在特定的范围之内。扫描数据清晰表明共流出物的干扰。

然后, 重复运行样品, 对包括 22 到 24.5 分钟在内的问题区, 进行三次中心切割到第二根柱上。在一些过敏原中作为保护剂的丙二醇, 在第一个窗口, 可能干扰柠檬油精, 苯甲醇和苯乙醛等。在第二个中心切割窗口定性与定量羟基香茅醛是另一方面, 存在干扰物质, 有时采用标准方法定量也存在问题。采用监控检测器得到的色谱图见图 3B, 其中三个中心切割窗口在基线的平滑部分显示。

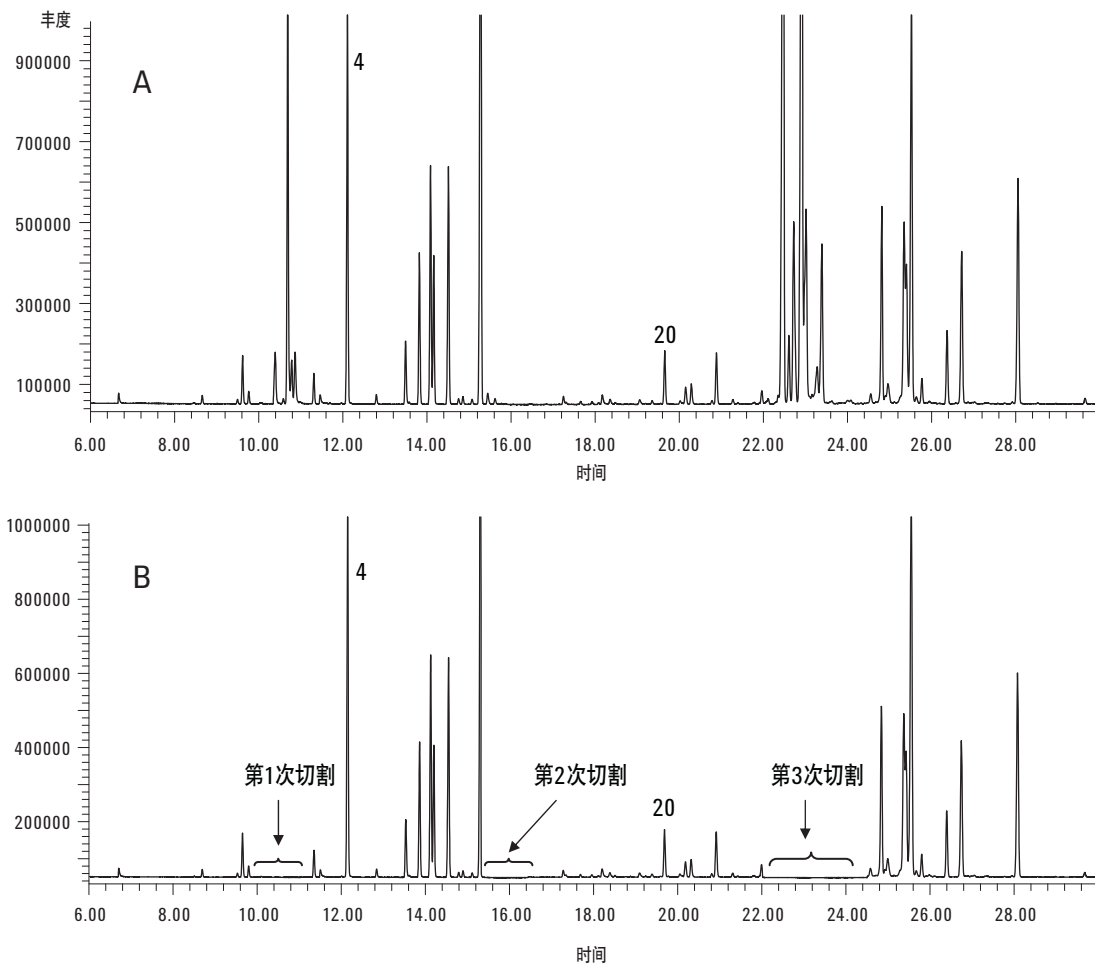


图 3. A) 不采用中心切割, 采用 FID 检测器, 在第一维柱上(安捷伦 J&W HP-5MS) 分离香水样品。峰: 4. 芳樟醇; 峰 20. α -异甲基紫罗(兰)酮。
B) 采用中心切割, 采用 FID 检测器, 在第一维柱上(安捷伦 J&W HP-5MS) 分离香水样品。(切割段: 10.2–11.0, 15.3–16.4, 和 22.0–24.5 min)

lyral 片段在第二维柱上分离的总离子流图 (中心切割 3) 见图 4A。首先, 在第二根柱上的分析采用与在第一根柱上相同的温度程序 (LTM 程序=7890A 柱温程序), 这显示了如果将第二根柱安装在 GC 柱箱内 (传统 2D GC 配置) 的分离情况。可检测到至少 8 个峰。lyral 异构体在 25.4 和 25.5 分钟流出。然而, 第二个异构体与其它组分共流出, 不可能确认和定量。这种情况下 lyral 异构体的流出温度约为 240 °C。在该温度下保留和选择性均较低。

重复实验, 次级分离柱采用 J&W DB-17ms, 在 50 °C 至最后一次中心切割完成, 然后温度以 6 °C/min 升高。采用这个方法, 组分首

先富集到 LTM 柱头, 然后在该程序升温中以较低的温度 200 °C 流出, 保证保留和选择性均起作用。另一个优点: 由于富集原因, 使峰宽变窄, 分离度提高。在此条件下, 异构体在 49.25 和 49.4 分钟流出, 定量不受干扰。中心切割片段 3 (柱 1, 22 至 24.5 min) 见图 4B。与图 4A 相比, 至少宽浓度范围的 20 个峰和完全分离。因此, 样品中 lyral 异构体可准确确认和定量。

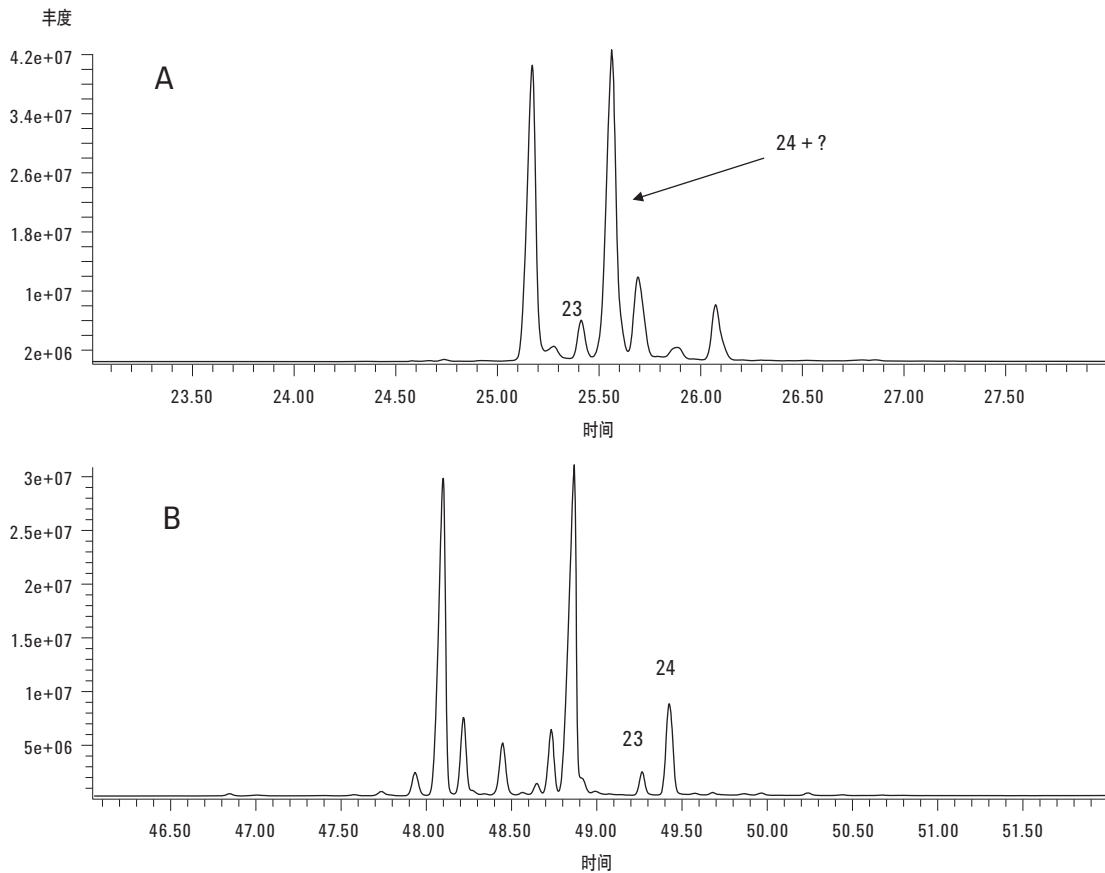


图 4. A) 采用 MS 检测器, 在第二维柱 (安捷伦 J&W DB-17ms) 上, 片段 3 的分离。柱 1 温度=柱 2 温度: 以 8 °C/min 从 50 °C (1 min) 升至 270 °C。峰: 23. Lyral 1; 24. Lyral 2. B) 采用 MS 检测器, 在第二维柱 (安捷伦 J&W DB-17ms) 上, 组分 3 的分离。柱 2 温度: 以 6 °C/min 从 50 °C (25 min) 升至 250 °C。峰: 23. Lyral 1; 24. Lyral 2

通过比较图 4 中的色谱图,显而易见,2D GC 中第二根柱的独立温度控制大大提高了优化分离度和选择性的能力。这点在采用手性第二维色谱柱,分析对映体时得到证实[6]。

除香水样品之外,本文的方法也适用于产品中香料香味过敏原的测定。在这些应用中,任何非挥发性或不易流出的基质化合物可从第一维柱上反吹出,在较早的应用文章中已进行过相似讨论[7]。

结论

采用 Deans switch 中心切割的二维 GC-MS 联用技术,可用于复杂香水和化妆品中香料和香味过敏原的测定。采用 LTM 技术,第二维柱可与第一根柱独立,优化柱温度,可提高从基质干扰物种分离目标组分的选择性和分离度。使用 LTM 模块是较合算的、方便的配置,比用两台独立的 GC 节省空间。

参考文献

1. 指令 2003/15/EC, 欧盟官方期刊, 6 66/26, 11.3.2003
2. A. Chaintreau, D. Joulain, C. Marin, C.-O. Schmidt, and M. Vey, *J. Agric. Food Chem.*, 2003, 51: 6398–6403
3. F. David, C. Devos, and P. Sandra, *LC.GC Europe* 19, Nov 2006, 602–616
4. H. Leijts, J. Broekhans, L. van Pelt, and C. Mussinan, *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53: 5487–5491
5. W. Luan, C. Sandy, and M. Szelewski, “采用安捷伦解卷积报告软件, 测定香料产品中的过敏原物质” 安捷伦科技出版物 5989-8724EN, June 2008
6. F. David and M.S. Klee, “采用 LTM 模块的独立柱温控制, 提高手性化合物的多维分离,” 安捷伦科技出版物 5990-3428EN, January 2009
7. F. David and M.S. Klee, “采用 7890A 气相色谱和毛细管柱反吹技术, 分析化妆品中可疑的香料香味过敏原,” 安捷伦科技出版物 5989-6460EN, March 2007

更多信息

如需了解产品和服务的更多信息, 请访问
www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本文中的信息，描述和指标如有更改恕不另行通知。

© 安捷伦科技有限公司，2009
2009年2月12日中国印刷
5990-3576CHCN



Agilent Technologies