Agilent J&W DB-624UI ウルトライナート GC カラムを用いた有機酸およびアルコールの分析

アプリケーションノート

食品試験、農業

著者

Pat Sasso、Ken Lynam

Agilent Technologies, Inc.

概要

短鎖脂肪族および芳香族アルコールとカルボン酸の 26 成分混合物を用いて、新たに発売された Agilent J&W DB-624UI カラムを評価し、良好なピーク形状と分離能が得られることを実証しました。このカラムを Agilent 624 以外の相と比較しました。DB-624UI カラムを用いた場合、有機酸については、特定の揮発度 (C3～C8) に関して妥当なピーク幅とピーク対称性が得られました。このことは、これらの化合物をメチルエステルに誘導体化せずに分析できる可能性を示唆しています。

はじめに

近年、心臓の健康に関して、長鎖オメガ 3 脂肪酸の効果が注目されるようになっています。サケ組織や健康補助食品など、さまざまなマトリックス中でこの脂肪酸をガスクロマトグラフィにより正確に定量するためには、通常は抽出、乾燥、メチルエステルへの誘導体化が必要となります。こうしたテクニックは広く実施されていますが、多くのサンプル前処理をおこなわずに有機酸を測定するために、HPLC と組み合わせた電荷エアロゾル検出などの新たな手法が導入されています [1]。しかし、HPLC カラムでは、類似性の高い化合物をキャピラリ GC カラムのように分離できない点が問題となります。逆相 HPLC に伴うもうひとつの問題は、水性環境にサンプルを注入する必要があることです。分析対象化合物が非極性の性質をもち、GC で使用可能な非極性溶媒への抽出が容易であるため、GC での分析には大きな利点があります。

Agilent Technologies

廃水に関する EPA メソッド 624 にもとづいたパージ可能なハロゲン化炭化水素分析で最初に 624 相が採用されて以来、DB-624UI カラムは独自の選択性を持っています。十分な量のシアノプロピルフェニルとメチルプロシロキサンの高パーセンテージの組み合わせにより、2-ブタノンや酢酸エチルなど、これまでは分離能の低かった同重体イオン成分の GC/MS 分析が可能になっています [2]。

このアプリケーションノートでは、時間のかかる誘導体化を実施しない有機酸およびアルコールの分析について、DB-624UI GC カラムと他社カラムの性能を評価しました。

分析手法

一連の分析には、Agilent 7683B オートサンプラを備えた Agilent 6890N GC/FID を使用しました。

条件

カラム :	Agilent J&W DB-624UI、30 m × 0.32 mm、1.8 µm (p/n 123-1334UI)
サンプル :	26 成分アルコールおよび酸混合物 (C_1〜C_{12})、1 成分あたりオンカラムで 100 ng
キャリア :	水素、38 cm/s、2.0 mL/min、コンスタントフローモード
オーブン :	35 °C (1 分維持)、10 °C/min で 35〜260 °C (1 分維持)
注入口温度 :	200 °C
注入口ライナ :	不活性デュアルテーパーダイレクトコネクト
オートサンプラ :	Agilent 7683B、0.5 µL シリンジ、スプリット注入 (比率 100:1)
GC :	Agilent 6890N GC/FID
検出器 :	FID、265 °C

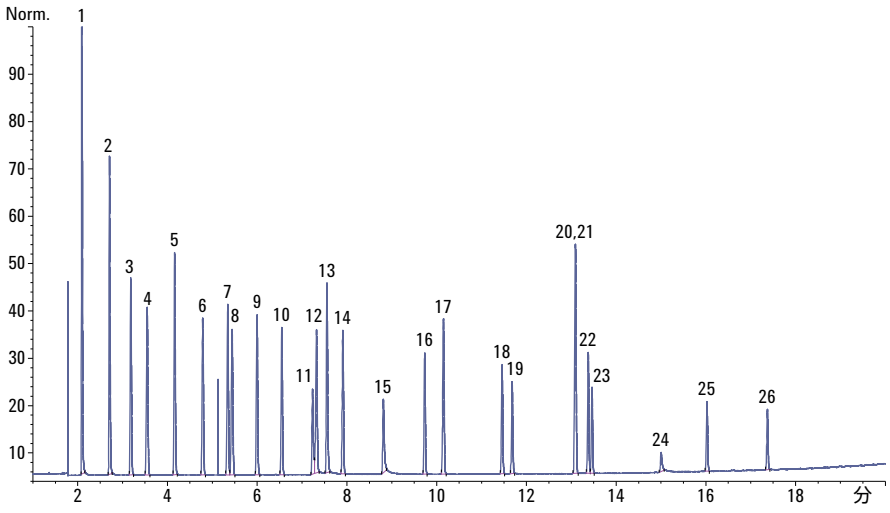

図 1. Agilent J&W DB-624UI GC カラムを用いた試験用混合物の分析では、有機酸に関して充分なピーク形状が得られています。

分析で使用したアジレント消耗品

バイアル :	茶色、スクリューキャップ (p/n 5182-0716)
キャップ :	青、スクリューキャップ (p/n 5282-0723)
バイアルインサート :	250 µL ガラス、ポリマーフィート (p/n 5181-1270)
シリンジ :	0.5 µL (p/n G4513-80229)
セプタム :	アドバンストグリーン (p/n 5183-4759)
注入口ライナ :	デュアルテーパー、ダイレクトコネクト (p/n G1544-80700)
拡大鏡 :	20× (p/n 430-1020)

標準物質

Sigma-Aldrich から入手した ACS グレード以上の試薬を用いて、FID レスポンスに対応する炭素数の 26 成分確認用混合物を作成しました。FID 検出器ですべての成分に関してほぼ同じ面積レスポンスを得るために、オートサンプラバイアル内での経時的な蒸発を考慮して、メタノールをやや多めに加えました。

結果と考察

アジレント以外のベンダーから EPA 624 カラムを購入しました。アジレントカラムと他社カラムの寸法と膜厚は同じです。すべてのカラムについて、一晩コンディショニングをおこなってから注入しました。評価基準は、3 種類の有機酸のピーク対称性、アルコールのピーク形状、重要ピーク対であるフェニルエタノールとノナノールの分離能です。EI 350 °C 不活性イオン源を備えた EI モードの Agilent 5975D を用いた GC/MS により、溶出順序を個別に確認しました。

図 1 は、DB-624UI カラムを用いた試験用混合物の分析結果を示しています。3 種類の有機酸で、充分なピーク対称性が得られています。

表 1 は、面積パーセントとパフォーマンスを含めて計算したピーク対称性を示しています。表 2 の 3 回繰り返し注入の解析結果では、DB-624UI カラムで再現性の高いピーク対称性と重要なピーク対の分離能が得られていることが示されています。

注目すべきは、同じ温度プログラム条件でも、2 つの他社カラムでは、重要なピーク対において分離能が得られていない点です。このことから、すべての 624 相カラムが同じ性能ではないことがわかります。

表 1. Agilent J&W DB-624UI GC カラムを用いて分離した非誘導体化アルコールおよび酸のピーク幅とピーク対称性

成分	ピーク番号	ピーク幅	ピーク対称性
メタノール	1	0.0194	0.6993
エタノール	2	0.0247	0.7842
イソプロパノール	3	0.0293	0.8980
Tert-ブタノール	4	0.0348	0.9528
1-プロパノール	5	0.0299	0.9035
2-ブタノール	6	0.0321	0.9521
2-メチル-1-プロパノール	7	0.0334	0.9610
2-メチル-2-ブタノール	8	0.0367	0.9796
1-ブタノール	9	0.0314	0.9466
3.ペンタノール	10	0.0323	0.9836
プロパン酸	11	0.0329	0.5443
3-メチル-1-ブタノール	12	0.0354	1.0277
エチレングリコール	13	0.0309	0.8296
1-ペンタノール	14	0.0310	0.9785
ブタン酸	15	0.0347	0.5953
1-ヘキサノール	16	0.0312	0.9894
シクロヘキサノール	17	0.0342	0.9668
1-ヘプタノール	18	0.0308	0.9882
1,2-ペンタンジオール	19	0.0313	0.9390
ベンジルおよびオクタノール	20, 21	0.0380	1.0342
フェニルエタノール	22	0.0321	0.9638
ノナノール	23	0.0305	0.9578
オクタン酸	24	0.0374	0.6355
デカノール	25	0.0309	0.9398
ウンデカノール	26	0.0311	0.9527

表 2. 3 回繰り返し注入の結果は、Agilent J&W DB-624UI GC カラム (シリアルナンバー USC179032H) で再現性の高いピーク対称性と分離能が得られていることを示しています。

化合物	平均対称性	標準偏差
プロパン酸	0.70	0.01
ブタン酸	1.10	0.03
オクタン酸	0.87	0.01
	平均 RS	**標準偏差**
フェニルエタノール/ノナノール重要ピーク対	3.883	0.021

図 2 は、他社カラムにおいてピーク対称性が得られていないことを示しています。他社カラムでは、酪酸とも呼ばれるブタノン酸で大きなテーリングが生じています。また、繰り返し注入の際には、適切に積分するのはほぼ不可能でした。この化合物は、嗅覚の優れた哺乳類 (犬など) なら濃度 10 µg/L で検知できますが、人間の場合は 10 mg/L を上回らないと検知できません。ブタノン酸は、バターが腐った場合などに、加水分解により酪酸がグリセリドから遊離し、つんと鼻を刺すような独特の悪臭が生じます。

図 3 では、DB-624UI カラムと他社 624 カラムにおけるオクタン酸のピーク対称性を比較しています。DB-624UI カラムでは、揮発性が低くなるほど対称性が向上する傾向が見られますが、他社カラムではその反対の傾向が見られます。特にオクタン酸は、きわめて広い幅で溶出しているため、注入したサンプル中に存在しないように見えます。カプリル酸とも呼ばれるオクタン酸は、酪農製品やパーム油に 6〜8 % の濃度で含まれています。パーム油は、流通量が世界第 2 位の食用油です [3]。

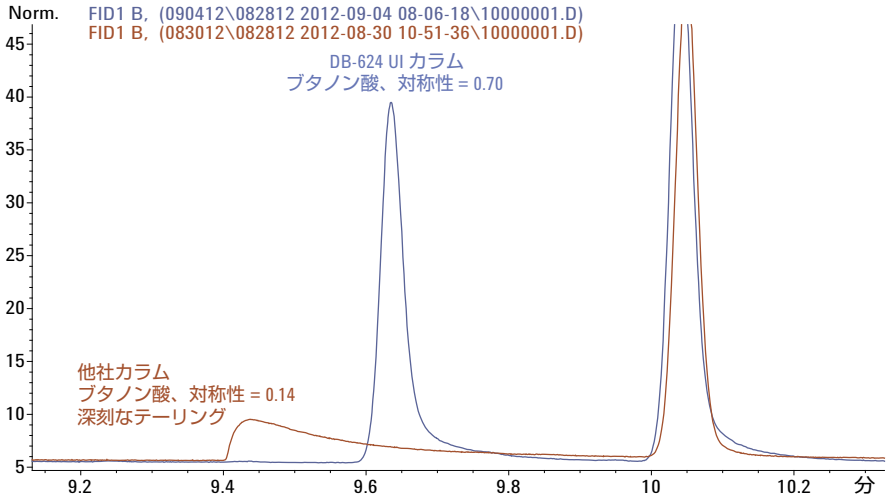

図 2. Agilent J&W DB-624UI GC カラムと他社 624 カラムにおけるブタノン酸 (酪酸) のピーク形状

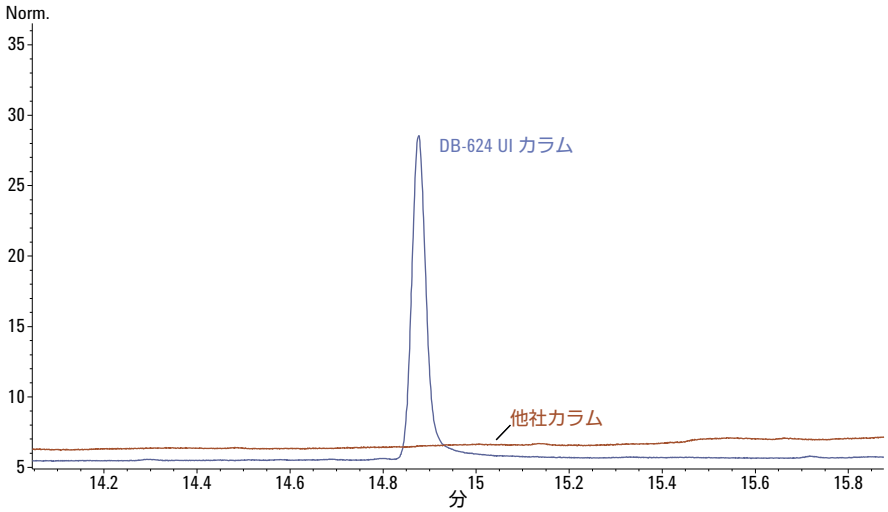

図 3. 他社 624 カラムでは、オクタン酸 (カプリル酸) のピーク形状の対称性が完全に失われています。

結論

DB-624 ウルトライナート GC カラムでは、他社 624 カラムよりも優れた性能が得られました。誘導体化を省略できることによる時間の節約を考えると、この固定相は多くの有機酸の分析に適しています。満足の行くピーク対称性と分離能が得られたのはアジレントのカラムだけだったことから、前述のエステル誘導体化などの分析手順をおこなう場合、分析を成功させるためにはカラムの選択性がきわめて重要であるといえます。

参考文献

1. I. Acworth, M. Plante, B. Bailey, C. Crafts. “Quantitation of Underivatized Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids in Foods by HPLC and Charged Aerosol Detection”. Thermo Fisher Scientific, Inc. Publication Number LPN 2931-02 01/12 (2011).
2. EPA. EPA Method 624 - Purgeables. U.S. Environmental Protection Agency. http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/organics/upload/2007_07_10_methods_method_organics_624.pdf
3. C. Coslett. Facts on Palm Kernel Oil. http://www.ehow.com/facts_5783441_palm-kernel-oil.html

詳細情報

本書に記載されたデータは代表的なものです。アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

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。
著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2012
Printed in Japan
November 8, 2012
5991-1441JAJP

Agilent Technologies