

采用 GC-FID 对香精样品进行质量控制： 将方法从 Agilent 7890 GC 转移至 Agilent Intuvo 9000 GC

作者

Frank David, Tatiana Cucu,
Christophe Devos
色谱研究所
Pres. Kennedypark 26,
B-8500 Kortrijk, Belgium
Rebecca Veeneman 博士
安捷伦科技有限公司

摘要

精油、香精和香水的质量控制通常采用 GC-FID 进行。重要的气相色谱性能标准包括分离度、保留时间和保留指数的稳定性以及样品通量。本应用简报介绍了将在 Agilent 7890 GC 上开发的参考方法转移至 Agilent Intuvo 9000 GC 上，同时比较了分析典型香精样品和精油样品获得的数据。结果证明，Intuvo 9000 GC 保持了出色的数据质量，同时使用较短的窄径色谱柱可以提高样品通量。

前言

香精香料行业中的质量控制 (QC) 通常采用气相色谱 (GC) 完成^[1,2]。对于指纹图谱分析和研发, 通常使用气相色谱-质谱 (MS) 联用系统。但是, 在 QC 环境中, GC-FID 分析是首选方法^[3]。将得到的精油、香水或香精油生产样品的 GC-FID 谱图与组分已知的批准样品的参比谱图进行比较。相对样品组成 (峰面积 %) 以及存在的污染物或杂质均得到验证。产品真伪和原产地真伪可以通过标记化合物是否存在或其相对浓度来控制。

香精是精油和合成香料化合物的混合物, 因此产品中通常含有 100 多种化学成分。为了实现准确分析, 需要使用高分离度气相色谱方法。色谱分离度以及保留时间或保留指数 (RI) 的重现性是最重要的系统适用性标准^[4]。在 QA/QC 环境中, 效率和样品通量也同样重要, 因此使用了多种方法来缩短气相色谱的运行时间, 包括采用较短的窄径色谱柱、氢气载气和快速的程序升温。但是, 无论采用何种方法都应保留足够的色谱分离度^[5]。

香精和精油还有一个特征, 就是成分的范围很宽, 某些成分含量较高 (1%–50%), 而某些溶质的含量则在 0.01%–0.1% 水平。由于这些痕量化合物对于香精质量可能十分重要, 因此高分离度气相色谱方法还应具备较宽的动态范围, 且所选的气相色谱柱必须具有足够的溶质容量。

因此, 用于香精、香水和精油 QA/QC 的高性能 GC-FID 方法的色谱分离度、分析速度 (样品通量) 和溶质容量 (灵敏度) 之间需要微妙的平衡。使用最先进的气相色谱柱技术可以实现这一目标, 该技术采用 150–250 μm 内径的色谱柱, 并以氢气作为载气。将其用于最先进的气相色谱仪, 可实现快速加热和冷却循环, 使实验室在保持方法性能的同时提高效率。

本应用简报介绍了使用 Intuvo 9000 GC 对某些典型的香精和精油样品进行气相色谱分析。首先在 7890 GC 上使用标准方法分析样品, 然后将方法转移至 Intuvo 9000 GC。此外, 利用仪器的快速加热功能, 通过方法转换将分析速度提高至原来的 2–4 倍。

实验部分

样品前处理

香精油购自家用产品生产商, 两种精油样品购自当地药店。从香水商店购买了一款市售香水样品。采用丙酮稀释样品, 浓度在 25–100 mg/mL 之间, 具体取决于初始稀释度。用于生产家用产品 (如洗涤剂 and 表面清洁剂) 的香精油成分非常复杂, 通常超过 100 种。为了进行气相色谱分析, 将这种香精油稀释 40 倍 (浓度为 2.5%, 用丙酮稀释)。市售香水样品成分较为复杂, 采用丙酮稀释 10 倍。

两种精油样品为柠檬油 (产地: 美国加利福尼亚), 主成分为柠檬烯; 以及复杂檀香油, 主成分为倍半萜类。精油样品采用丙酮稀释至 5%。

上述样品仅用于仪器和方法验证。未尝试对上述样品进行完整表征, 也未验证其产地、质量和组成。

气相色谱参数

采用 7890B GC 和 Intuvo 9000 GC 进行 GC-FID 分析。两种系统均配有分流/不分流进样口、火焰离子化检测器以及配备 10 μL 进样针的 Agilent 7693 自动液体进样器 (ALS)。

在参考方法中，使用 Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)。该极性色谱柱比经典 PEG 或 WAX 色谱柱具有更高的热稳定性，尤其适用于分析在庚烷 (RI 700) 和三十烷 (RI 3000) 之间洗脱的香精成分。表 1 汇总了参考方法的参数。

在 Intuvo 9000 GC 上使用了两种高通量方法，速度增益因子分别为 1.79 和 4.27。表 2 中列出了使用方法转换软件（用于采集和分析的 Agilent OpenLab 2.2 软件的一部分）获得的方法参数（未修改的参数没有列出）。

结果与讨论

将方法从 7890 GC 转移至 Intuvo 9000 GC

图 1A 和 1B 分别展示了在 7890 GC 和 Intuvo 9000 GC 上使用参考方法获得的结果。如图所示，色谱分离度得到保持，在两台仪器上获得了相同的谱图。对于选定成分，在每台仪器上确定 RI 和峰面积 %（排除溶剂峰后进行归一化）。表 3 为汇总的结果，表明两台仪器的 RI 值相同 ($\Delta RI < 2$ RI 单位)。如果要比较在不同仪器上采集的数据，RI 值很重要。结果还表明，Intuvo 9000 GC 中的芯片式保护柱不会影响相对溶质保留值。表 3 中的相对峰面积 % 数据表明，采用两种仪器获得的定量结果相差无几。

表 1. Agilent 7890 GC 和 Agilent Intuvo 9000 GC 上参考方法的 GC-FID 参数

参数	值
进样口	分流 (1/50) - 250 °C, 超高惰性分流衬管 (部件号 5190-2295)
进样量	1 μL
色谱柱	Agilent J&W DB-HeavyWAX, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 122-7132 或 122-7132-INT)
色谱柱流速	1.8 mL/min 氢气, 恒流模式
柱温程序	50 °C (1 min) – 5 °C/min – 250 °C (10 min)
Intuvo 芯片式保护柱温度	柱温箱跟踪模式
Intuvo 总线温度	250 °C
Intuvo 检测器尾部	300 °C
检测器	火焰离子化检测器 300 °C, 40 mL/min 氢气, 400 mL/min 空气

表 2. Agilent Intuvo 9000 GC 的高通量 GC-FID 参数

速度增益 1.79	
参数	值
色谱柱	Agilent J&W DB-HeavyWAX, 20 m × 0.18 mm, 0.18 μm (部件号 121-7122)
色谱柱流速	1.3 mL/min 氢气, 恒流模式
柱温程序	50 °C (0.56 min) – 8.93 °C/min – 250 °C (5.6 min)
速度增益 4.27	
参数	值
色谱柱	Agilent J&W DB-HeavyWAX, 10 m × 0.18 mm, 0.18 μm (部件号 121-7112)
色谱柱流速	1.3 mL/min 氢气, 恒流模式
柱温程序	50 °C (0.23 min) – 21.37 °C/min – 250 °C (2.34 min)

表 3. 在 Agilent 7890 GC 和 Agilent Intuvo 9000 GC 上采用参考方法测得的香精油成分的 RI 和峰面积 %

化合物	Agilent 7890 GC		Agilent Intuvo 9000 GC	
	RI	峰面积 %	RI	峰面积 %
乙酸芳樟酯	1559	4.02	1559	3.92
乙酸异冰片酯	1579	3.12	1579	3.04
乙酸苜酯	1699	2.22	1699	2.14
乙酸二甲基苜基原酯	1764	3.47	1765	3.43
α-异甲基紫罗兰酮	1843	2.70	1841	2.71
苯乙醇	1898	3.59	1897	3.55
反式-β-紫罗兰酮	1921	4.70	1921	4.71
β-甲基紫罗兰酮	2039	7.86	2038	7.75
水杨酸己酯	2194	2.87	2193	2.86
戊基肉桂醛	2237	3.38	2236	3.42
4-己烯基苯	2293	2.76	2293	2.85
牡丹腈	2516	1.93	2518	1.95
水杨酸苜酯	2753	2.32	2751	2.37

檀香油样品的分析结果证明了这两种系统的等效性。檀香油是通过对各种檀香树（例如檀香和澳洲檀香）的木片进行水蒸汽蒸馏而获得的。檀香油主要为倍半萜醇，包括 α -檀香醇和 β -檀香醇。油的成分取决于树种、产地、树龄、季节和提取工艺。檀香醇异构体和其他倍半萜类的相对浓度常用于真伪鉴定和 QC 验证^[6]。

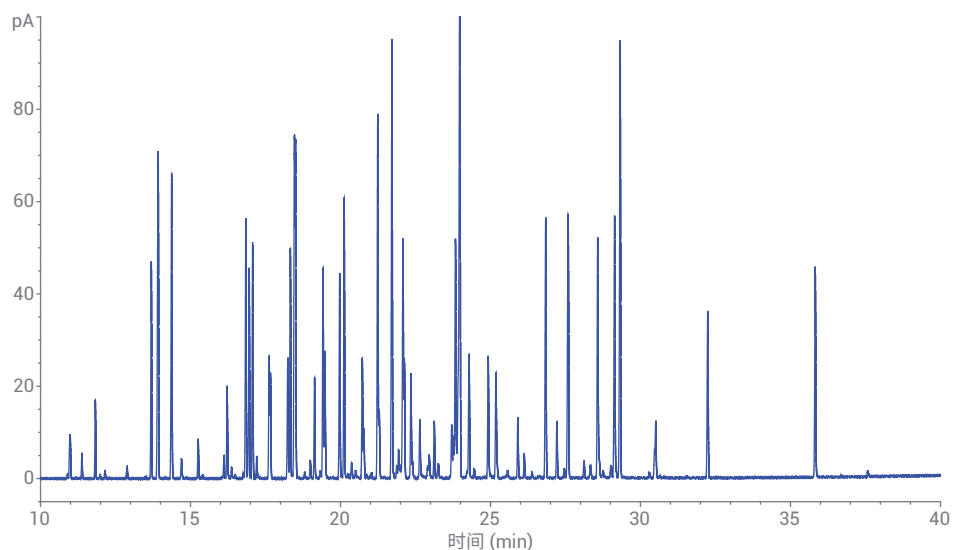


图 1A. 在配备 30 m × 0.25 mm, 0.25 μ m Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent 7890 GC 上使用参考方法进行香精油 GC-FID 分析

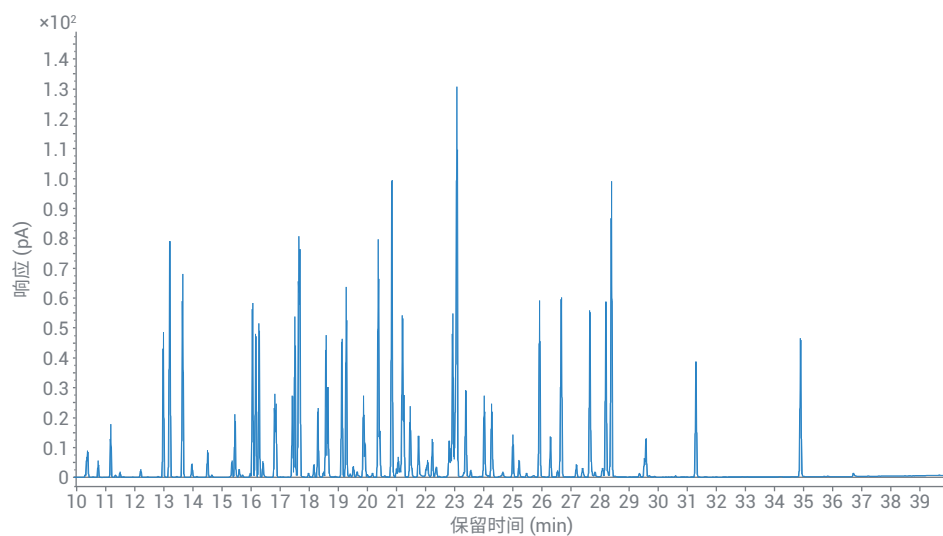


图 1B. 在配备 30 m × 0.25 mm, 0.25 μ m Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 GC 上使用参考方法进行香精油 GC-FID 分析

图 2A 和 2B 分别显示了采用 7890 GC 和 Intuvo 9000 GC 分析市售檀香油样品获得的 GC-FID 谱图。在将方法从 7890 转移到 Intuvo 之后，获得了相似的谱图，RI 保持不变。

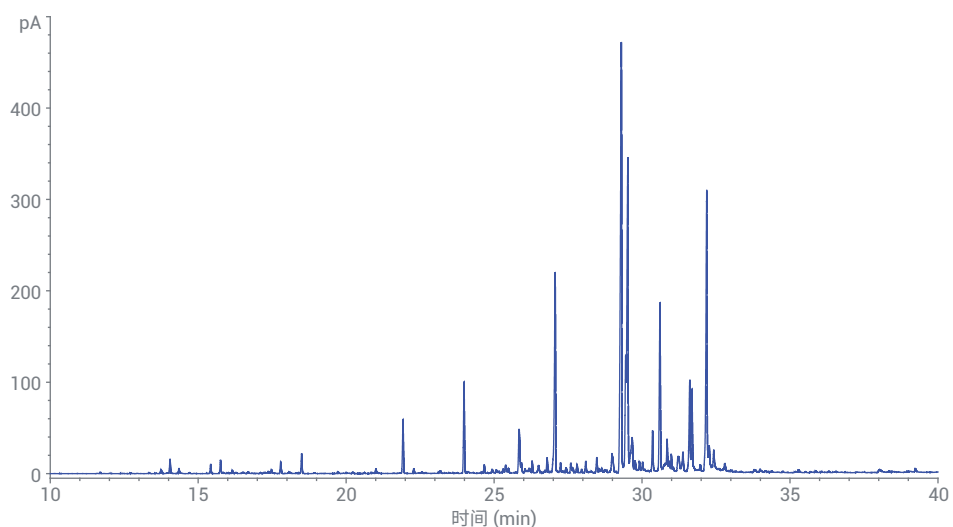


图 2A. 在配备 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent 7890 GC 上使用参考方法进行檀香油 GC-FID 分析

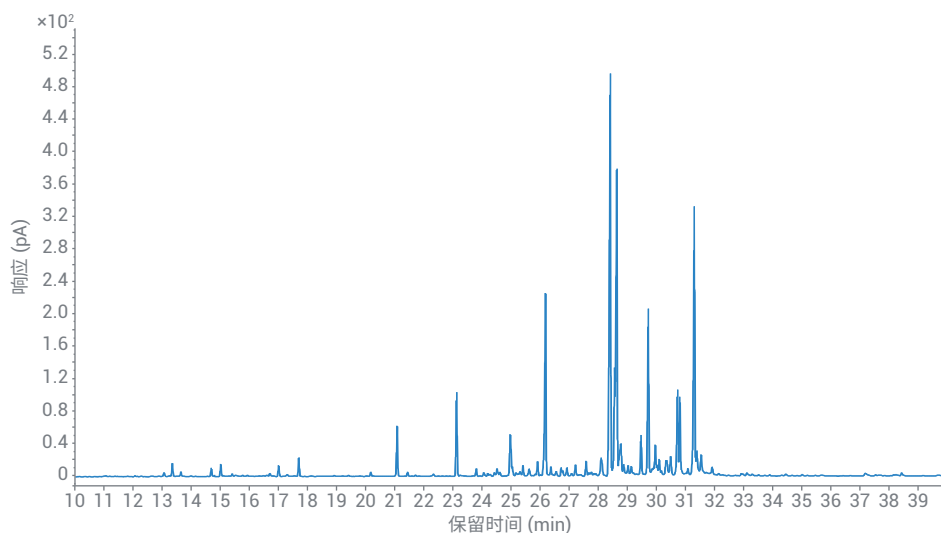


图 2B. 在配备 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 GC 上使用参考方法进行檀香油 GC-FID 分析

不影响分离度的方法转换

接下来，将使用 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-HeavyWAX 色谱柱的参考方法转换为使用 20 m × 0.18 mm, 0.18 μm DB-HeavyWAX 色谱柱。使用较短的窄径色谱柱，可以在保持色谱分离度的同时缩短气相色谱运行时间^[5]。使用 OpenLab GC 软件内置的方法转换计算器，计算出更快速的气相色谱方法的方法参数。计算器预测速度增益因子为 1.79。

通过分析市售香水样品对方法转换加以说明。图 3A 和 3B 分别显示了在 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-HeavyWAX 色谱柱和 20 m × 0.18 mm, 0.18 μm DB-HeavyWAX 色谱柱上获得的 GC-FID 谱图。

两幅谱图相似，且色谱分离度保持不变。在 30 m 色谱柱上使用参考方法时，最后一个峰在 36.85 分钟处洗脱，而在 20 m 色谱柱上使用转换后的方法时，该峰在 21.15 分钟处洗脱。实测速度增益因子 1.74 与预测速度增益因子 (1.79) 非常接近。另外发现，峰的 RI 非常相似，差值在 10 个 LRI 单位内，考虑到使用的是极性 WAX 色谱柱，这一结果非常不错^[4]。

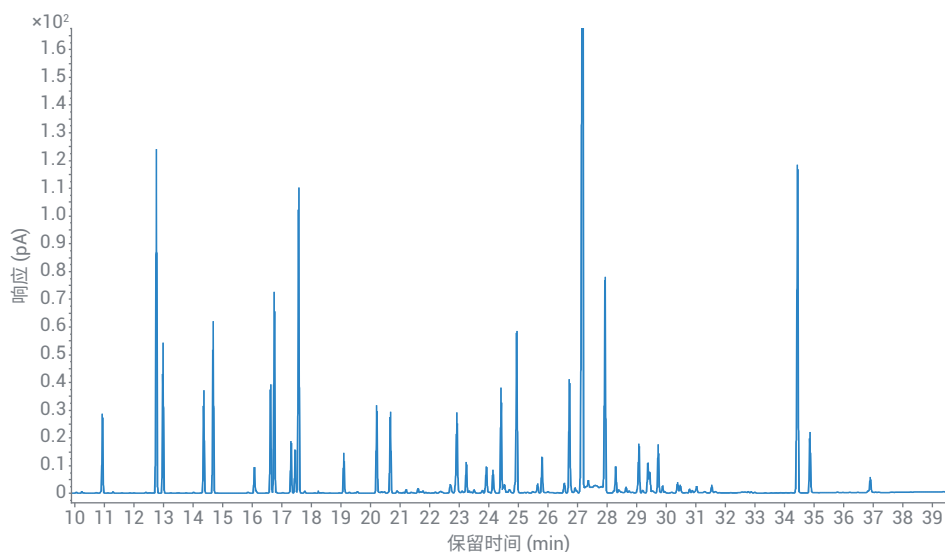


图 3A. 在配备 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 GC 上使用参考方法进行香水 GC-FID 分析

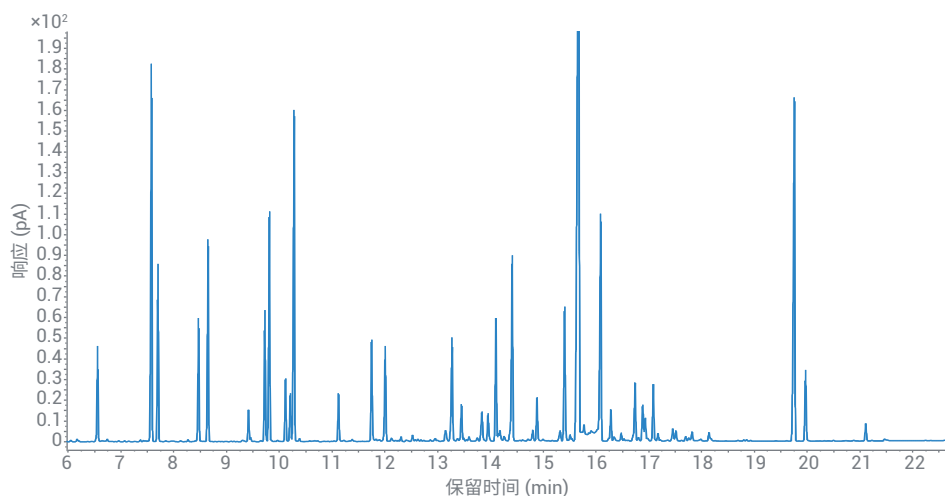


图 3B. 在配备 20 m × 0.18 mm, 0.18 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 GC 上使用转换后的方法进行香水 GC-FID 分析。

将方法转换为快速气相色谱方法，分离度降低

最后，采用高通量筛选方法分析柠檬油样品。图 4A 所示为在 7890 GC 上使用 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-HeavyWAX 色谱柱获得的参比谱图。图 4B 所示为在 Intuvo 9000 GC 上使用 10 m × 0.18 mm, 0.18 μm DB-HeavyWAX 色谱柱从同样样品获得的谱图。使用方法转换工具计算高通量方法的方法参数，预测速度增益因子为 4.27。表 4 所示为主峰归属以及实测 RI 和峰面积 % (排除溶剂峰后进行归一化)。

图 4A 和 4B 所示的 GC-FID 曲线十分相似。使用短色谱柱降低了色谱分离度，如 α-蒎烯/α-侧柏烯 (快速气相色谱方法为 0.69 分钟，图 4B) 和 β-红没药烯/香叶醛 (快速气相色谱方法为 2.50 分钟，图 4B) 的分离度有所降低。对于大多数其他溶质，包括重要的质量标记物，例如 β-月桂烯、对异丙基甲苯、橙花醛、香叶醛和 β-红没药烯，都可以保持足够的色谱分离度，从而可以准确定量^[7]。使用参考方法时，香叶醛在 10.47 分钟洗脱；在 Intuvo 9000 GC 上使用 10 m 色谱柱的快速气相色谱方法时在 2.51 分钟洗脱。实测速度增益因子为 4.17，与预测速度增益因子很接近。气相色谱运行时间为 3 分钟，因此分析周期小于 5 分钟。

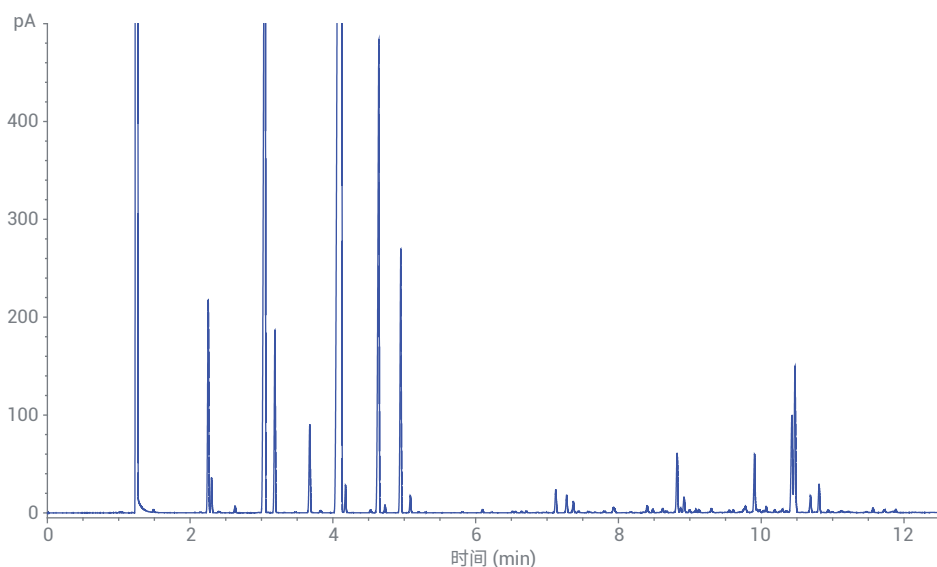


图 4A. 在配备 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent 7890 GC 上使用参考方法进行柠檬油 GC-FID 分析

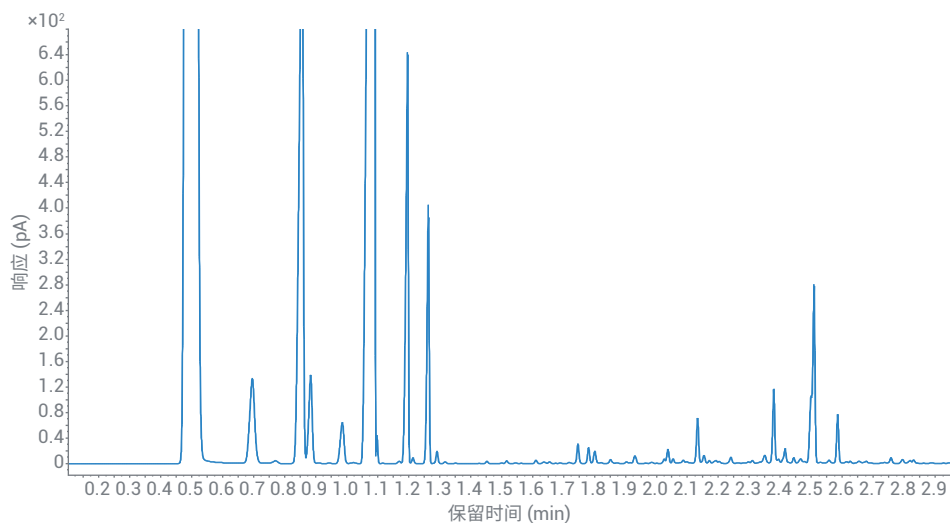


图 4B. 在配备 10 m × 0.18 mm, 0.18 μm Agilent J&W DB-HeavyWAX 色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 GC 上使用转换后的方法进行柠檬油 GC-FID 分析

所选的 180 μm 内径色谱柱还提供了足够的溶质容量，能够避免严重的前延峰和高丰度柠檬烯峰过载（柠檬烯的相对浓度 = 60%）。进一步减小色谱柱直径（例如减小为 100 μm 内径色谱柱）将需要减少进样量或增加分流比，这可能会降低微量溶质的可检测性，并降低分析准确性和稳定性。因此，150–180 μm 内径色谱柱可在分离度、分析速度和定量分析之间取得最佳平衡。

结论

可将用于香精、香水和精油质量控制的高分离度 GC-FID 方法从 Agilent 7890 GC 转移到 Agilent Intuvo 9000 GC，同时保持色谱图谱和分离度、RI 和峰面积 % 保持不变。使用长径比与参比柱相似的较短窄径色谱柱可以将气相色谱运行时间缩短一半，同时保持原有的色谱分离度。使用较短的气相色谱柱和 Intuvo 9000 GC 的快速加热和冷却功能，可以进一步提高样品通量，从而实现分析周期仅 5 分钟快速筛选方法。

表 4. 在 Agilent 7890 GC 上使用参考方法以及在 Agilent Intuvo 9000 GC 上采用快速气相色谱方法测得的柠檬油成分的 RI 和峰面积 %

化合物	Agilent 7890 GC 参考方法			Agilent Intuvo 9000 GC 快速方法		
	RT (min)	RI	峰面积 %	RT (min)	RI	峰面积 %
α -蒎烯	2.25	1021	2.78	0.69	1021	2.82
α -侧柏烯	2.30	1027	0.65	0.69	1021	–
β -蒎烯	3.05	1109	16.40	0.85	1107	16.63
桉烯	3.19	1120	2.09	0.88	1119	2.11
β -月桂烯	3.68	1165	1.13	0.98	1167	1.19
柠檬烯	4.12	1204	59.43	1.08	1200	60.65
γ -松油烯	4.64	1243	6.52	1.19	1241	6.65
对异丙基甲苯	4.95	1267	3.08	1.26	1266	3.16
橙花醛	9.91	1683	0.83	2.38	1679	0.81
β -红没药烯	10.43	1720	1.34	2.50	1718	1.40
香叶醛	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

www.agilent.com

仅限研究使用。不可用于诊断目的。

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。