低熱容量 LTM シリーズ II システムを使用した天然油および抽出物の分析

アプリケーションノート

著者

Roger L. Firor
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Rd
Wilmington, DE 19808

概要

サイプレス油、ゼラニウム抽出物、バルサム葉油、ジャスミン油などの天然油または天然抽出物において、リナロールおよびその他の重要な成分の光学異性体を 2 台の GC オーブンを使用した多次元システムで分析を行いました。1 台目のオーブンは、CFT Deans スイッチと DB-5ms 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm を取り付けた 7890 GC オーブンで、2 台目のオーブンは CycloDex B キラルカラム 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm を取り付けた直接加熱 LTM II 5-インチモジュールです。キラルカラムを独立して温度コントロールすることで、成分の最適な分離を実現できます。LTM シリーズ II は Agilent 7890A GC システムに完全に統合されたため、コンスタントフローモードでの操作が可能になりました。FID/MSD と FID/FID システムの両方について紹介します。

Agilent Technologies

はじめに

低熱容量 (LTM) テクノロジーには 2 つの主なメリットがあります。1 つ目のメリットは、分離を維持したままサイクルタイムを短縮できることです。LTM モジュールに変更する場合、カラムは元のものより長さが短く、場合によっては内径も細くなります。この時、メソッド変更を支援する強力なツールとしてメソッド変換ソフトウェアを使用することができます [1]。2 つ目のメリットは、分離が難しい分析において、LTM を 2 つ目の独立したオーブンとして温度制御ができることです。

リナロール (3,7-ジメチル-1,6-オクタジエン-3-オール) は、香水、食品、および代替医薬品の業界において重要な化合物です。これは不斉炭素原子を持つため、光学異性体が存在します。3 (R) – 体の香りは花のように爽やかですが、3 (S) + 体は木のような香りで爽やかさは弱くなります。2 つの光学異性体の分離はキラルカラムを使用して行います。合成物のリナロールはそれぞれの光学異性体の量がほぼ同じです。天然物では、通常 1 つの異性体が優勢しています。2 つの異性体のクロマト分離によって、成分の由来、粗悪品および偽造品を識別できます。精油へのラセミ合成物の添加は、よく知られた問題で、これにより物理化学的特性が変化し、望ましくない結果を引き起こす可能性があります。本アプリケーションは、従来の LTM システムを使用したリナロール構造異性体の分離を検討した以前のアプリケーションをベースにしています。[2]

2 つの独立したオーブンプログラムを組み合わせて使用する Deans スイッチによるハートカットは天然油と合成油の両方において主要成分の分離を最適にできます。また、キラルシクロデキストリンカラムを、ブリードとカラム劣化を引き起こす高温にすることも回避できます。本構成では、カラム温度を 150 °C に抑えることができ、最高使用温度の 200 °C を大幅に下回りました。サンプルは、最初に DB-5ms カラムに注入され、特定の溶出範囲を LTM II モジュール (シクロデキストリンカラム) にハートカットします。LTM モジュールは 2 つ目のオーブンとして、独立して温度プログラムを組むことができるので、1 回の分析でリナロールとその他の主要成分の最適な分離を行うことができます。

LTM シリーズ II には、従来の LTM ハードウェア/ファームウェア/ソフトウェアから、いくつか大きな改善が行われています。以下に改善点を示します。

- Agilent 7890A GC システムとの完全な統合、およびこのシステムによる制御
- Chemstation との完全な統合
- 正確なコンスタントフローモードでの制御
- 温度/圧力/流量のリアルタイム表示

実験

リストリクタ (空カラム) の寸法、GC オーブンカラムと LTM カラムの流量設定は、Deans Switch Calculator [3] を使用して決定しました。このソフトウェアでは、すべての分析カラムおよびリストリクタが同じオーブンにあることが前提とされることに注意してください。LTM /7890 システムは、これには当てはまりません。しかし、GC オーブンと LTM モジュールの開始温度の差はわずか 5 °C であるため、リストリクタの寸法の決定にはほとんど影響がありません。温度プログラムが開始され、温度差が大きくなるとリストリクタフローと LTM フローが異なる場合がありますが、初期条件で設定した GC オーブンカラムと LTM カラムの流量比 (約 2) では問題になることはありません。本システムでは、リストリクタフローは約 2.3 mL/min で開始され、7890 オーブン温度が 280 °C に上がると約 1.2 mL/min の流量に低下しますが、このリストリクタの長さは 0.6～0.7 m の長さにすることができるため問題になりません。

ファームウェアとソフトウェアの要件

Agilent 7890A GC システムファームウェア	A.01.12.1 以上
Agilent GC ChemStation	B.04.03 DSP1、LTM II ソフトウェアコントロールを含む
Agilent MSD ChemStation	E.02.02

LTM シリーズ II システム

G6680A、チャネル x 2、5-インチフォーマットトランスファラインアセンブリ x 2、電源 x 2。カラムは別途注文。

Deans スイッチ

G2855B または G3440A オプション #888

LTM シリーズ II カラム構成

LTM カラムアセンブリの構成の設定には、図 1 に示すような各セグメントの指定が必要です。カラム寸法とセグメント温度の両方を入力しなくてはいけません。これは、システムが正確なコンスタントフローモードで動作するために重要です。



図 1. LTM シリーズ II アセンブリを構成するセグメント

Agilent 7890A オプション
オプション 112、211、309 を搭載した G3440A

システム構成

ダイアグラム MSD システム

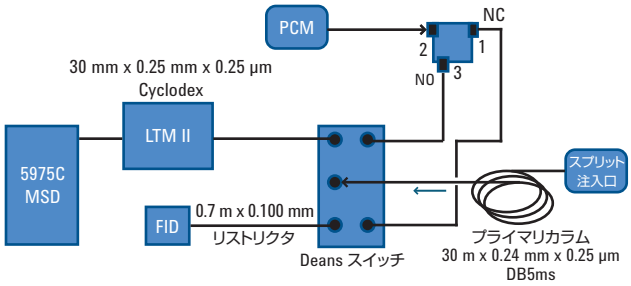


図 2. カラムとリストリクタのサイズを示す LTM シリーズ II/Deans/5975C システムのシステムダイアグラム

メソッドパラメータ

注入口	スプリット/スプリットレス、280 °C
スプリット比	200:1～400:1
プライマリカラム	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm DB5ms、1.3 mL/min (コンスタントフローモード)
7890 オーブンプログラム	10 °C/min で 70 °C (1 分)～280 °C (17 分)
LTM II プログラム	2 °C/min で 75 °C (7 分)～130 °C (5 分)
Deans スイッチリストリクタ	0.7 m x 0.100 µm 不活性フューズドシリカ
5975C MSD	25～160 amu でスキャン
四重極	175 °C
ソース	230 °C
MSD トランスファライン	250 °C

LTM モジュール : コンスタントフローモードで動作、2.5 mL/min

カラム	30 m x 0.25 mm x 0.25µm CycloDex
入口セグメント	0.5 m x .25 mm 不活性フューズドシリカ (7890 オーブンで加熱)
出口セグメント	0.8 m x .25 mm 不活性フューズドシリカ (7890 オーブンで加熱)
出口セグメント 2	0.17 m x .25 mm 不活性フューズドシリカ (MSD トランスファラインで加熱)

FID システム

注入口	スプリット/スプリットレス、280 °C
スプリット比	200:1～400:1
プライマリカラム	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm DB5ms、1.3 mL/min (コンスタントフローモード)
7890 オーブンプログラム	10 °C/min で 70 °C (2 分)～280 °C (16 分)
LTM II プログラム	2 °C/min で 70 °C (7 分)～130 °C (1 分)
Deans スイッチリストリクタ	0.5 m x 0.100 µm 不活性フューズドシリカ

LTM モジュール : コンスタントフローモードで動作、2.5 mL/min

カラム	20 m x 0.25 mm x 0.25 µm CycloDex、2.4 mL/min のコンスタントフロー
入口セグメント	0.5 m x .25 mm 不活性フューズドシリカ (7890 オーブンで加熱)
出口セグメント	0.5 m x .25 mm 不活性フューズドシリカ (7890 オーブンで加熱)

ダイアグラム FID システム

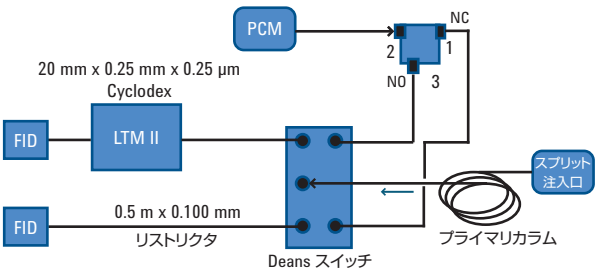


図 3. カラムとリストリクタのサイズを示す LTM シリーズ II/Deans/FID システムのシステムダイアグラム

サンプル

- 合成リナロール標準試料、Fluka Chemical、Sigma-Aldrich
- ゼラニウム抽出物 (天然)、サイプレス油、ジャスミン抽出物 (天然)、バルサム葉油 (天然)、Sigma-Aldrich
- 洗浄剤用の香料添加剤 (顧客サンプル)
- オレンジ油 8X (顧客サンプル)

そのまま注入した洗浄剤の添加剤を除くすべてのサンプルを塩化メチレンで適切に希釈しました。

結果と考察

MSD システム

天然油中のリナロールまたはその他の光学活性化合物の異性体は、DB-5ms などの非キラルカラムでは分離できません。図 4 は DB-5ms 30 m カラムのみを用いたゼラニウム抽出物の FID 分析クロマトグラムです。リナロールの異性体とその他の微量成分は約 8.3 分に共溶出します。すべての成分が溶出するためには、CycloDex の最高使用温度である 200 °C 以上に昇温する必要があるので、キラルカラムへの直接導入も良いアプローチではありません。CycloDex は 150 °C を超えるとブリードが急激に増加し、カラムの寿命も短くなります。

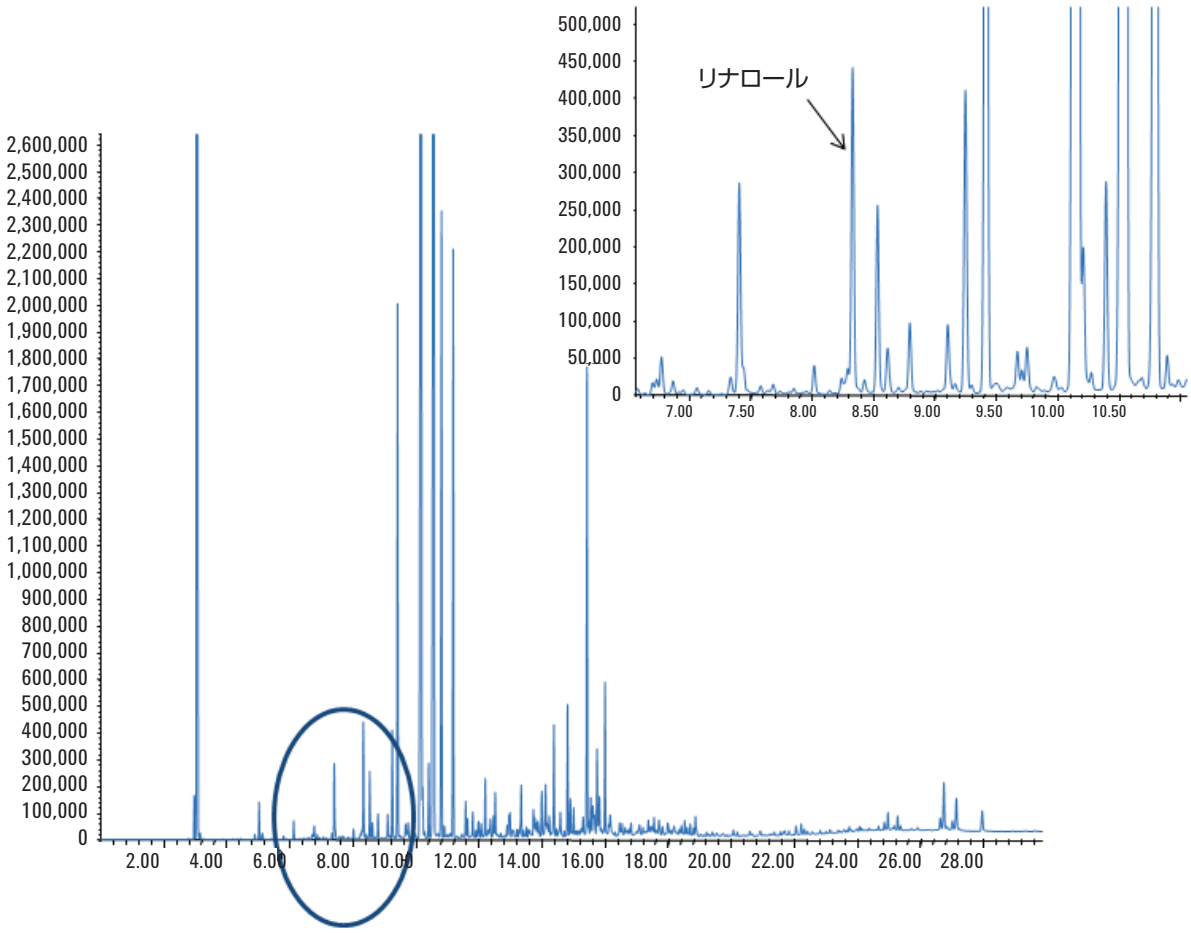


図 4. ハートカットを行わない DB-5ms 30m によるゼラニウム抽出物の FID 分析クロマトグラム

純粋な合成リナロールを使用して、Cyclodex カラムへのハートカット時間を決定しました。キラルカラムで分離した結果、予想されたとおりそれぞれのエナンチオマーはほぼ同量でした。図 5 は R と S 異性体の分離クロマトグラムで、ゼラニウム抽出物の分析結果を示しています。LTM II キラルカラムの 2 °C/min の昇温レートにおいてベースライン分離がほぼ得られており、共溶出化合物はないことが確認されました。これは天然油ですが、各リナロール異性体はほぼ同量になりました。抽出プロセス (おそらく水蒸気蒸留) によってラセミ化が発生した可能性があります。

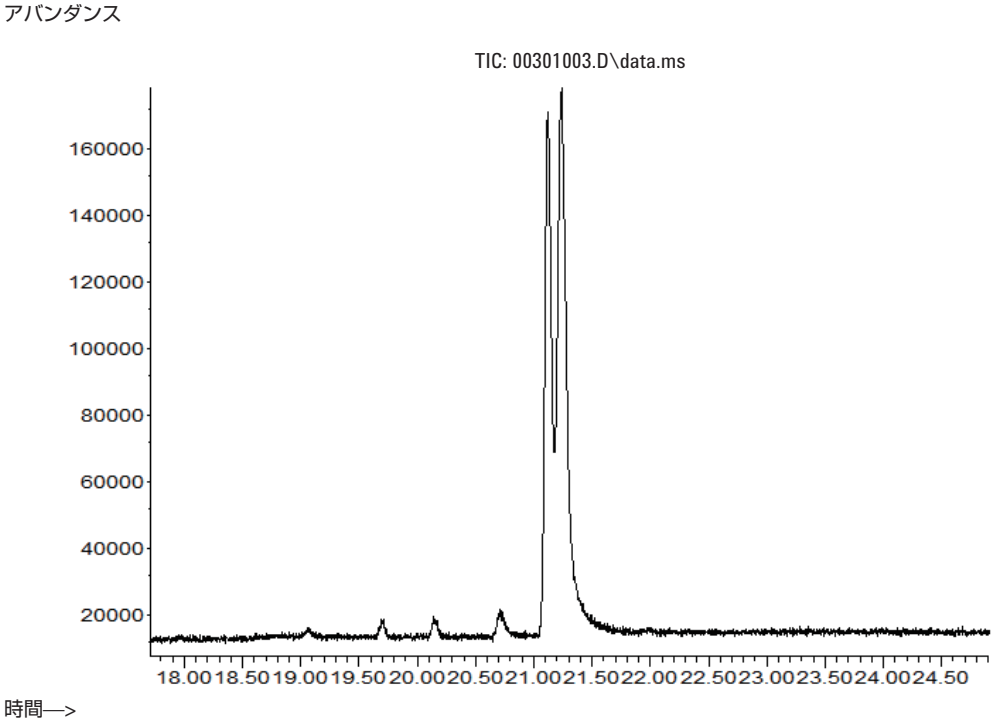


図 5. CFT Deans スイッチを使用したキラル LTM カラムへのハートカット。カット時間 : 8.25 分～8.38 分。
リナロールの両方のエナンチオマーが分離されています

天然油分析には、他にもいくつか重要なテルペン類の化合物が存在するため、LTM II/Deans スイッチシステムが有効です。たとえば、シトロネロールは風味料や香料の原料として高い価値があり、強いフルーティな香りを持つローズオキシドの合成に使用できます。シトロネロールはエナンチオマーとして存在し、S (–) -B-シトロネロールはゼラニウム油中に存在します。複数のハートカットを用いることで、リナロール、シトロネロール、およびその他の対象化合物を 1 回の測定で分析することができます。本分析結果を図 6 に示します。3 回目のハートカット範囲は、複数の目的化合物を分離するために広げています。

その他の天然油 (バルサム葉油、サイプレス油、ジャスミン抽出物、およびオレンジ油 8x) におけるリナロールの光学異性体分離をそれぞれ図 7～10 に示します。天然のリナロールは両方の光学異性体が存在しますが、これら 4 種類の油はすべて片方が多く含まれていました。一方、オレンジ油は、単一の光学異性体しか含まれていませんでした。

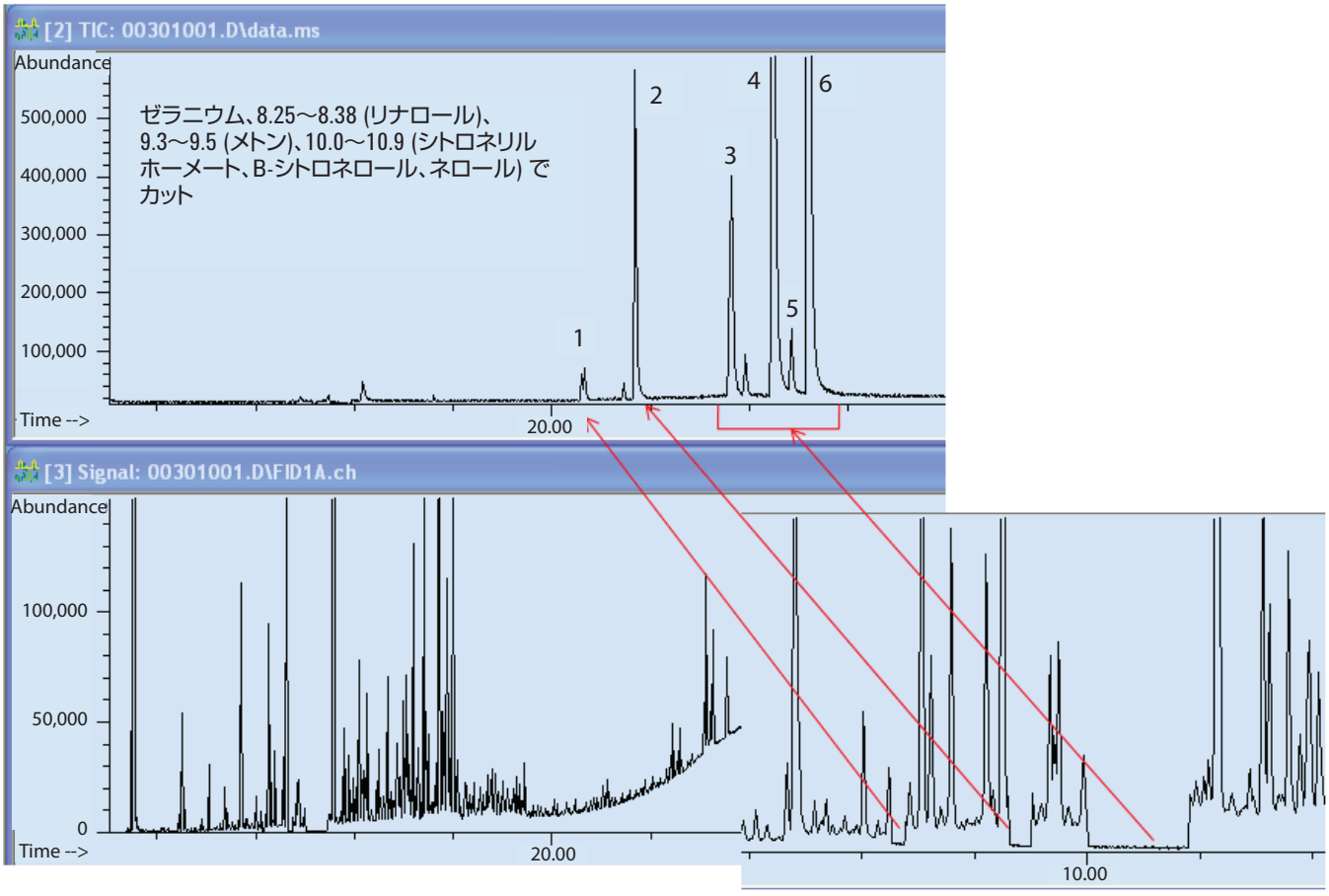


図 6. 3 回のハートカットによって得られるリナロール、メトン、シトロネリルホーメート、R (–) -B-シトロネロール、およびネロールの Cyclodex カラムの分離

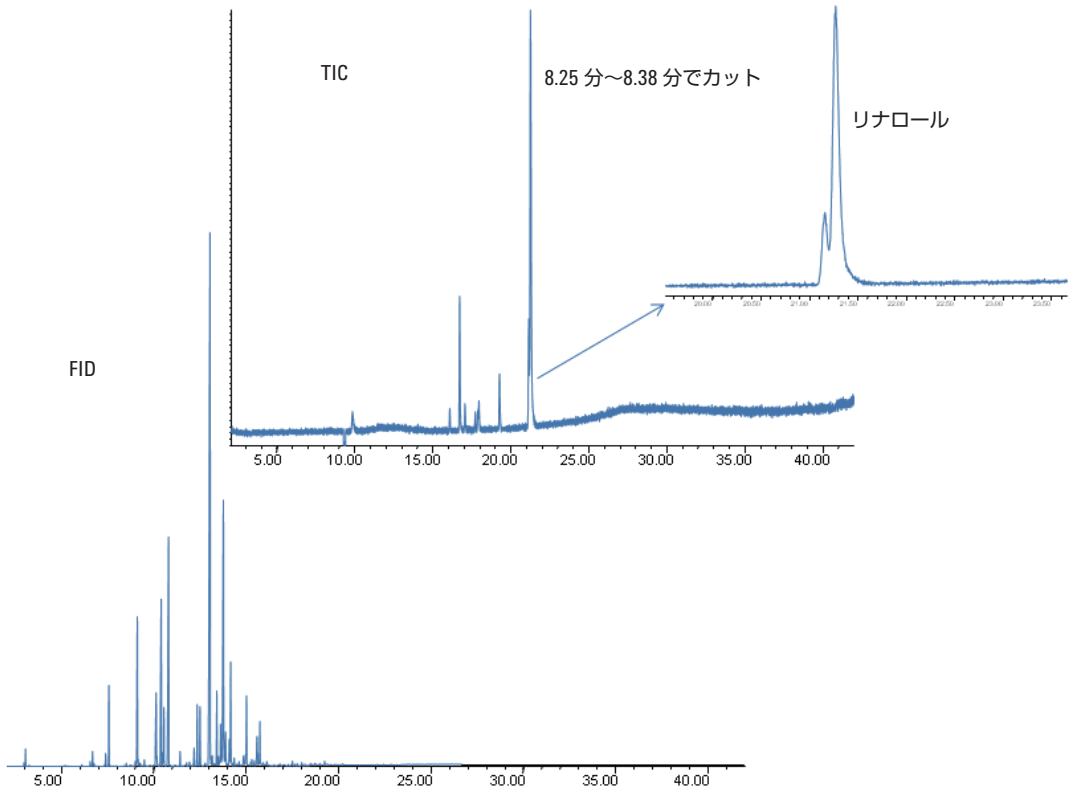


図 7. バルサム葉油の FID、TIC クロマトグラム

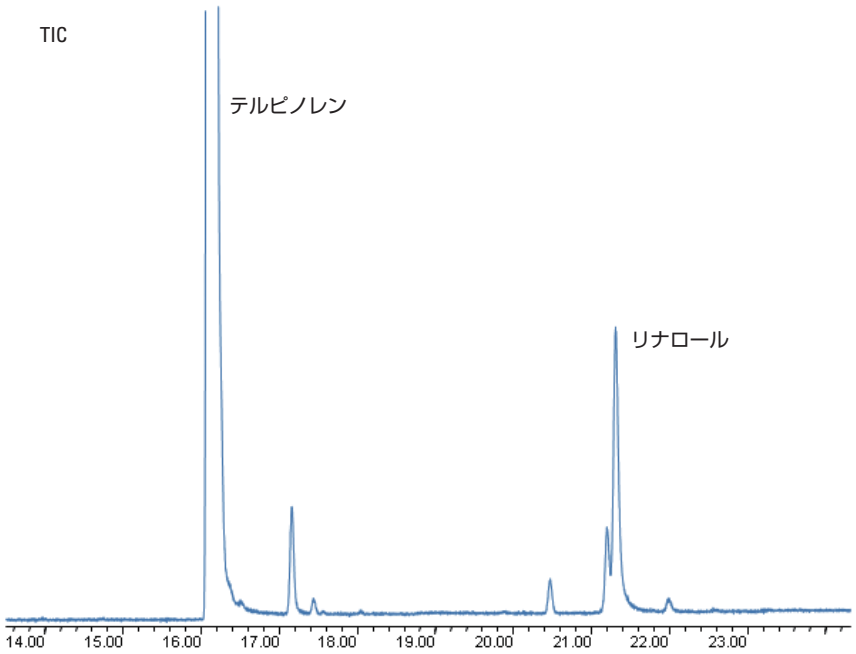


図 8. サイプレス油中のリナロール

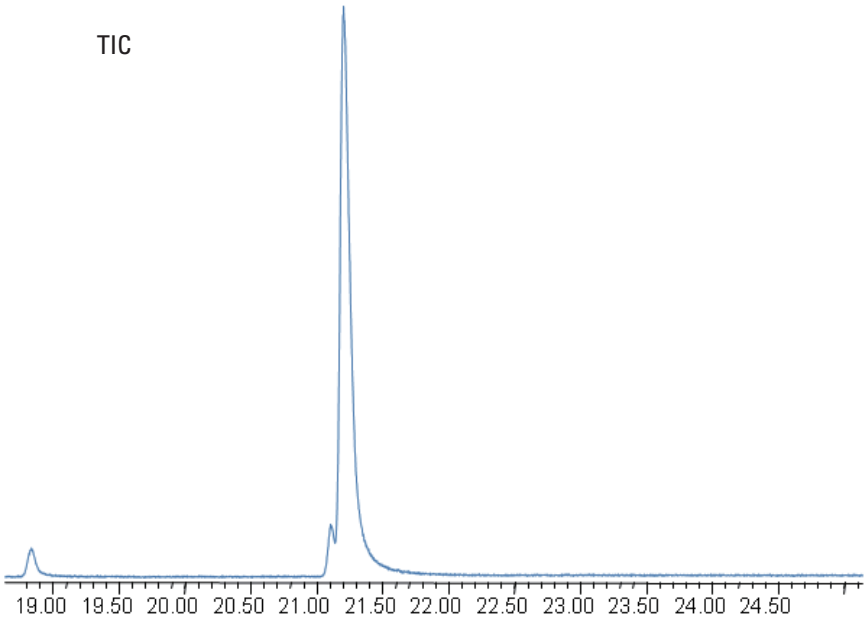


図 9. ジャスミン抽出物中のリナロール

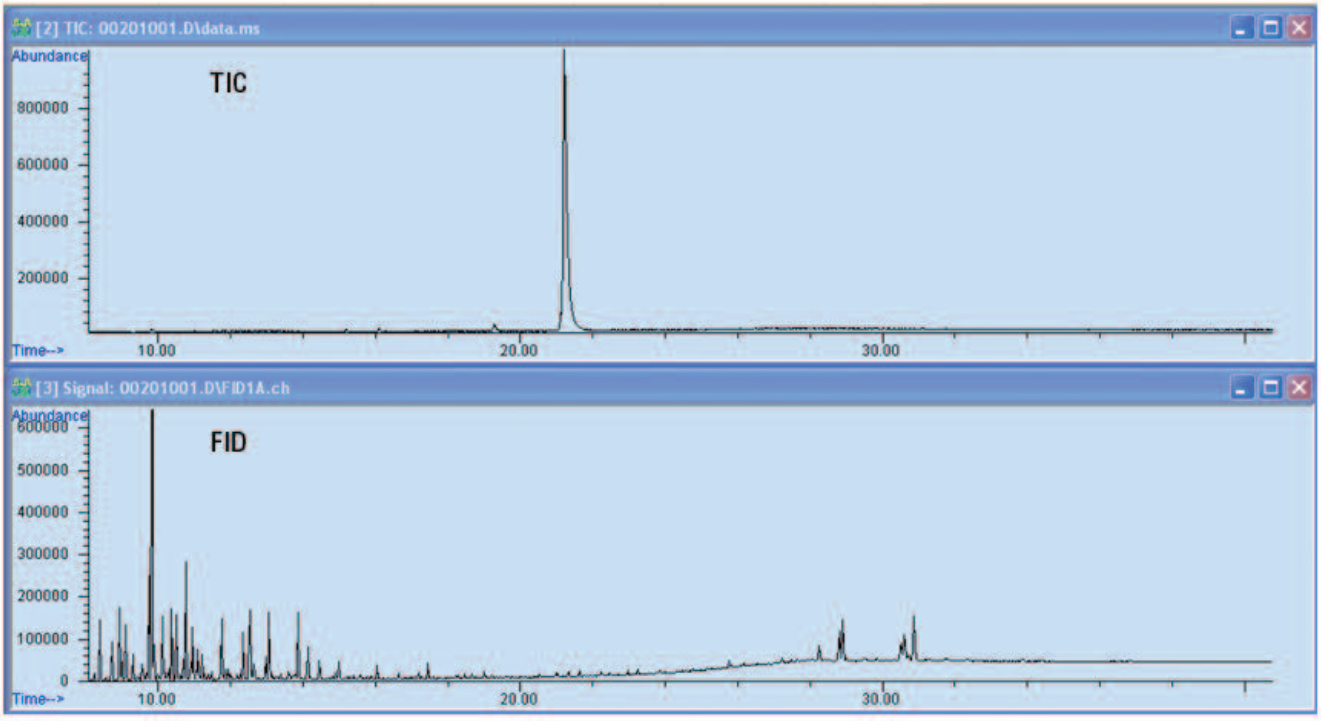


図 10. オレンジ油 8x における FID クロマトグラムおよびリナロールの TIC クロマトグラム

最後に、複雑な組成の合成洗浄剤の香料添加剤分析における TIC クロマトグラムを図 11 に示します。リナロールは合成物であることがわかります。

FID システム

ピークが既に同定されているルーチン分析の場合には、FID のみのシステムを使用できます。この構成 (図 3) では、Cyclodex カラム 20 m x 0.25 mm x 0.25 µm を使用します。このシステムでは、リナロールエナンチオマーの分離が若干悪くなりますが、より高速な分析が可能です。このように分析を速くしても、ほとんどの場合において、天然または合成リナロールの含有物質を同定するために十分な分離が得られます。サイプレス油を分析した例を図 12 に示します。これを MSD によって分析した結果 (図 8) と比較すると、MSD では 22 分に溶出しているのに対して、FID の分析においては約 14 分です。

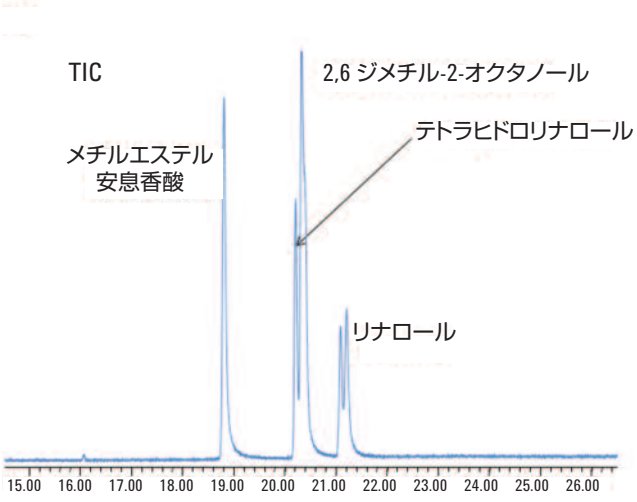


図 11. 洗浄剤の香料添加剤におけるリナロールの分析

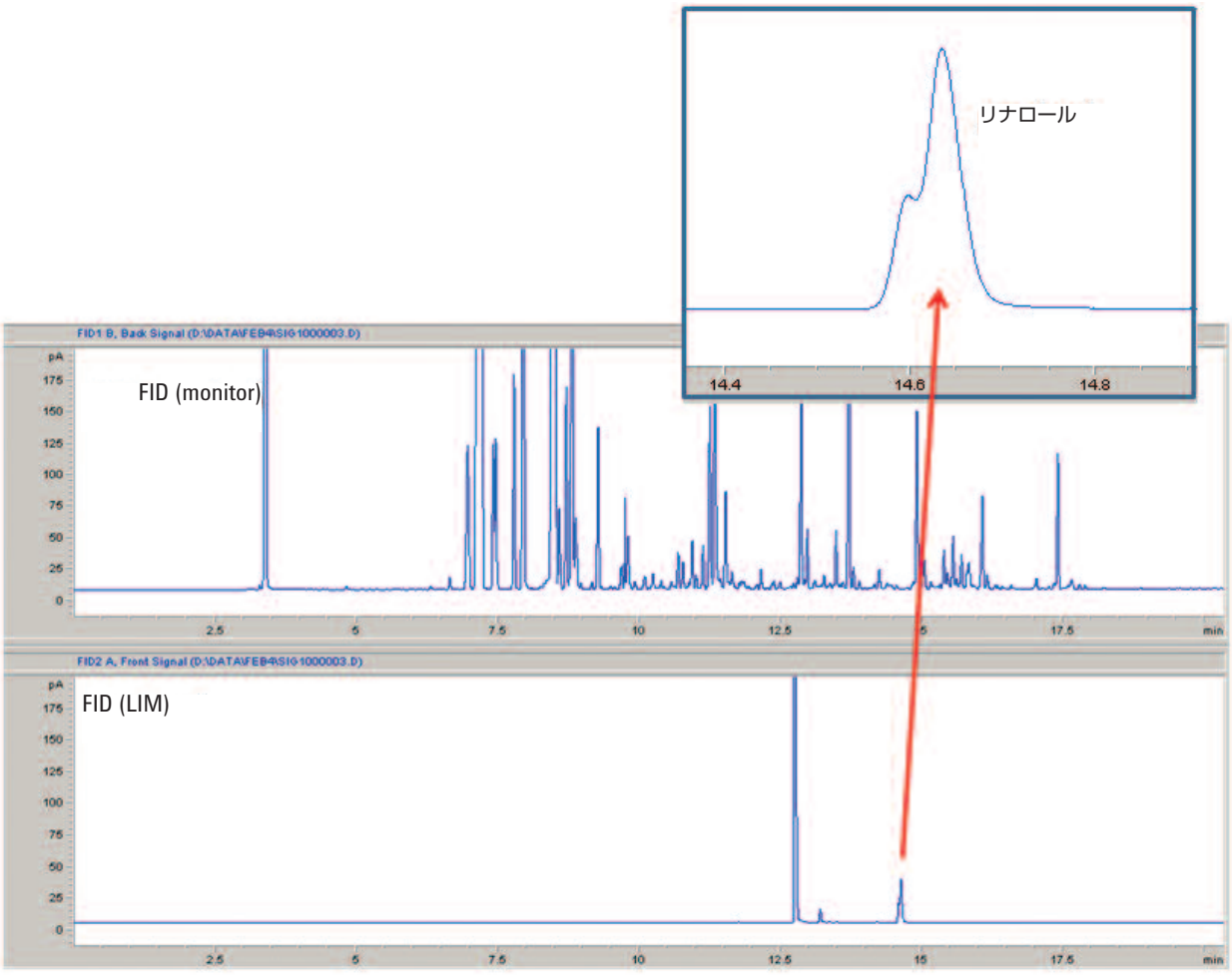


図 12. FID/Deans/LTM システムを使用したゼラニウム抽出物中のリナロールの分析、Cyclodex カラムへのハートカット時間は 9.25 分～10.05 分

まとめ

エッセンシャルオイルと抽出物の様々な構成成分は、食品、風味料、天然および合成香料、代替医薬品、アロマテラピーなどの多くの業界で高い価値を持っています。高価値の製剤においては、粗悪化の懸念があるため、光学異性体を分離することのできる信頼性の高い分析メソッドが必要です。

LTM シリーズ II には、Chemstation によるフルコントロール、正確なコンスタントフローモードでの制御など、新機能がいくつか組み込まれています。これは特に、Deans スイッチを使用する Agilent 5975C シリーズ GC/MSD のような複雑な構成システムで役立ちます。2 つの独立したオーブンを使用することで、天然油や合成製剤の最適な分析をすることができます。成分の由来、粗悪品および偽造品などを判定する光学異性体の分析には特に有効です。多くのアプリケーションでは、対象化合物のみがキラルカラムにハートカットされるため、分析時間も短縮できます。

ここで説明したシステムは、天然油と香水の品質管理ツールとして使用できます。ルーチンの品質管理では、低コストで使いやすい、シンプルな FID/FID システムを選択することができます。

LTM/CFT Deans/5975C システムは、キラルアプリケーション以外にも、さまざまな分析に使用できます。必要なのはカラム変更だけです。

参考文献

1. www.chem.agilent.com からダウンロード可能なメソッド変換ソフトウェア
2. 「キラル化合物の多次元分離の改善を目的とした LTM オーブンモジュールによるカラムの個別温度制御」, Frank David and Matthew Klee, Application Note 5990-3428JAJP
3. CFT デバイスに付属の「Agilent Capillary Flow Technology Accessories」CD に収録されている Deans Switch Calculator

詳細情報

これらのデータは標準的な結果を表しています。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., 2011
Printed in Japan
June 8, 2011
5990-8151JAJP

Agilent Technologies