

キャリアガスに水素を用いたガスクロマトグラフィーによる酢酸の定量性 についての検討

村上 賢太朗*, 片山 翔太*, 徳岡 太誠*, 石井 さつき*, 片山 貴之*

Quantitative analysis of acetic acid by gas chromatography using hydrogen as the carrier gas

MURAKAMI Kentaro *, KATAYAMA Shota *, TOKUOKA Taisei *, ISHII Satsuki * and KATAYAMA Takayuki *

*Kobe Customs Laboratory, 12-1, Shinko-cho, Chuo-ku, Kobe, Hyogo, 650-0041 Japan

Food preparations, especially salted ginger or ginger preserved in brine, are classified differently in the Customs Tariff Schedule depending on the acetic acid content. One of the methods for quantifying acetic acid already mentioned in the previous reports issued by the Central Customs Laboratory, is the GC method, which uses helium as the carrier gas, but in recent years obtaining helium has become difficult. In this study, we examined measurement conditions, internal standard substances, quantification limit and detection limit when using hydrogen as the carrier gas for GC. Moreover, through the measurement of food preparations, we confirmed that a significant difference in quantitative value of acetic acid was not observed by comparing the results using hydrogen and helium as carrier gases for the GC method.

1. 緒 言

税関分析において、調製食料品に含まれる酢酸の定量は重要な分析試験項目の一つである。例えば塩蔵しょうがについては、国内分類例規 0910.11, 0910.12 又は 2001.90「1. 塩蔵（塩水漬）しょうがの関税分類について」の規定により、酢酸の含有量が全重量の 0.5 % 以上のものは関税率表第 2001.90 号（基本税率 12 % ; 特惠税率 9 %）に、0.5 % 未満のものは、同表第 0910.11 号又は第 0910.12 号（協定税率 2.5 % - 9 %）に分類される。酢酸の含有量により税率格差が生じることから、酢酸を正確に定量する必要がある。

関税中央分析所報における既報の酢酸定量法の一つとしてガスクロマトグラフを用いた定量分析法¹⁾²⁾（以下、GC 法とする）があり、GC 法のキャリアガスにはヘリウムが採用されている。近年、ヘリウムの不足や国際情勢等の影響により、ヘリウムの供給が不安定で価格も高騰している状況であり、今後、ヘリウムが入手できなくなった際、分析をすることが困難になる。GC のキャリアガスの代替として水素が使用可能であるとの報告³⁾があるなか、調製食料品に含まれる酢酸を GC 法により測定するための定量性についての検討は未だなされていない。

本研究では、GC 法におけるキャリアガスとして水素を使用した場合の酢酸の定量性を確認することを目的とした。まず、キャリアガスに水素を使用した際の測定条件及び内標準物質を検討したのち、水素使用時の定量下限及び検出下限を検討した。そのうえで、酢酸含有量によって関税分類が異なる調製食料品の 1 つであるしょうがを対象として、キャリアガスをヘリウムから水素に

変更した際、定量値に有意差が認められるか確認し、酢酸の定量分析における GC 法のキャリアガスとして水素が使用可能か検討した。

2. 実 験

2.1 試 薬

酢酸、トリフルオロ酢酸（以下、TFA とする）、1-ペンタノール、1-ヘキサノール、メタノール、塩化ナトリウム（以上、富士フイルム和光純薬）、イソオクチルアルコール（米山薬品工業）、くえん酸一水和物（関東化学）

浸漬液 : 酢酸 15 g, 塩化ナトリウム 360 g 及びくえん酸一水和物 20 g を量り取り、水で 2 kg に調製したもの

標準酢酸溶液 : 酢酸 300 mg を量り取り、メタノールで 100 mL に定容したもの（3 mg/mL）

内部標準溶液 : 1-ペンタノール、1-ヘキサノール及びイソオクチルアルコールそれぞれ 300 mg を量り取り、メタノールで 200 mL に定容したもの

0.1 %TFA 溶液 : TFA 100 mg をメタノール 100 mL に溶解したもの

2.2 試 料

生しょうが : 市販品（国内産）

模擬試料 : 皮を剥いた生しょうが約 500 g を、酢酸水溶液約 2 L に漬けたもの

市販試料 1 : しょうが甘酢漬（薄切り）

市販試料 2 : 紅しょうが（千切り）

* 神戸税関業務部 〒650-0041 兵庫県神戸市中央区新港町 12-1

2.3 装置及び分析条件

2.3.1 共通条件

装置	: GC「8890」(Agilent Technologies 社製)
分離カラム	: HP-INNOWAX, 30 m×0.25 mm I.D., 膜厚 0.25 μm (Agilent Technologies 社製)
検出器	: 水素炎イオン化型検出器
検出器温度	: 300 °C
注入量	: 1 μL
注入口温度	: 260 °C
スプリット比	: 10 : 1
燃焼ガス流量	: 400 mL/min
検出器流量	: 30 mL/min (H_2)
Makeup gas 流量	: 10 mL/min (N_2)

2.3.2 ヘリウムキャリア使用時のカラム流量及び温度条件

カラム流量	: 0.75 mL/min
カラム温度	: 50 °C (0.5 min) - (50 °C/min) - 100 °C - (5 °C/min) - 150 °C - (50 °C/min) - 250 °C
ポストラン	: 250 °C, 3 min

2.3.3 水素キャリア使用時のカラム流量及び温度条件

本研究において使用した GC「8890」に内蔵の測定条件変換ソフト (メソッドトランスレータ) を使用し, キャリアガスを水素に変更した際の測定条件を算出したのち, 予備測定を通じて定量条件を次のように設定した。

カラム流量	: 1.65 mL/min
カラム温度	: 50 °C (0.23 min) - (109 °C/min) - 100 °C - (10 °C/min) - 150 °C - (110 °C/min) - 250 °C
ポストラン	: 250 °C, 1.36 min

2.4 実験

2.4.1 内標準物質の検討

標準酢酸溶液 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL 及び 25 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容メスフラスコに量り取り, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを, 検量線作成用の試料として, 測定に供した。

2.4.2 定量下限及び検出限界の検討

標準酢酸溶液 1 mL, 1.5 mL, 2 mL, 3 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL 及び 25 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容メスフラスコに量り取り, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを, 検量線作成用の試料として, 測定に供した。

次に, 標準酢酸溶液から 1 mL, 5 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容メスフラスコに量り取り, メタノールを加えて定容したものを作成し, それぞれ希釈液 1 及び 2 とした。希釈液 1 から 1 mL, 3 mL 及び 5 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容

メスフラスコに量り取り, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを, 検量線作成用の試料として, 測定に供した。また, 希釈液 2 から 1 mL, 2 mL, 3 mL 及び 5 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容メスフラスコに量り取り, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを, 検量線作成用の試料として, 測定に供した。

それぞれの検体を 2.3 の条件で測定して得られたクロマトグラムから求めた酢酸と内標準物質のピーク面積比と検体中の酢酸の重量から検量線を作成した。最小二乗法により得た回帰直線を酢酸定量用の検量線として, 直線性を評価した。

2.4.3 キャリアガスを比較するための各試料の分析

2.4.3.1 模擬試料の分析

粉碎した模擬試料から 10 g を正確に 50 mL 容メスフラスコに量り取った。これに, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを測定に供した。また, 2.4.1 と同様に検量線を作成した。

2.4.3.2 市販試料 1 の分析

粉碎した市販試料 1 から 10 g を正確に 50 mL 容メスフラスコに量り取った。これに, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを測定に供した。

また, 標準酢酸溶液 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL, 25 mL 及び 40 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容メスフラスコに量り取り, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを, 検量線作成用の試料として, 測定に供した。

2.4.3.3 市販試料 2 の分析

粉碎した市販試料 2 から 10 g を正確に 50 mL 容メスフラスコに量り取った。これに, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを測定に供した。

また, 標準酢酸溶液 2 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL 及び 25 mL をホールピペットでそれぞれ 50 mL 容メスフラスコに量り取り, 内標準溶液 10 mL をホールピペットで加えたのち, 0.1 %TFA 溶液 1 mL を加え, メタノールで定容し, 事前にメタノールを通液したイオン交換樹脂を通し, ポアサイズ 0.45 μm のメンブランフィルターでろ過したものを, 検量線作成用の試料として, 測定に供した。

3. 結果及び考察

3.1 内標準物質の検討

2.4.1 で調製した検量線作成用の試料を 2.3.1 及び 2.3.3 の条件で測定して得られたクロマトグラムを Fig. 1 に示す. 内標準物質として用いた 1-ペンタノール, 1-ヘキサノール及びイソオクチルアルコールのいずれの検出ピークも, 溶媒及び酢酸のピークとは重ならなかった. また, 1-ペンタノール, 1-ヘキサノール及びイソオクチルアルコールを内標準物質として作成した検量線をそれぞれ Fig. 2~4 に示す. いずれの内標準物質を用いた検量線も相関係数は 0.9999 を上回り, 良好な直線性を示した. このことから, いずれも内標準物質として使用できると考えられるが, 本研究では, 既報の GC 法²⁾に合わせ 1-ペンタノールを用いることとした.

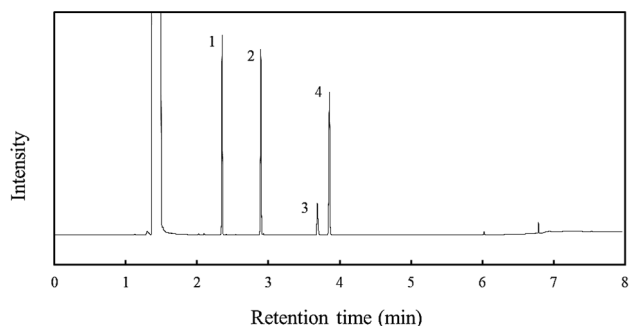


Fig.1 Gas chromatogram of standard solution (1: 1-Pentyl alcohol, 2: 1-Hexyl alcohol, 3: acetic acid, 4: Isooctyl alcohol), using hydrogen as the carrier gas.

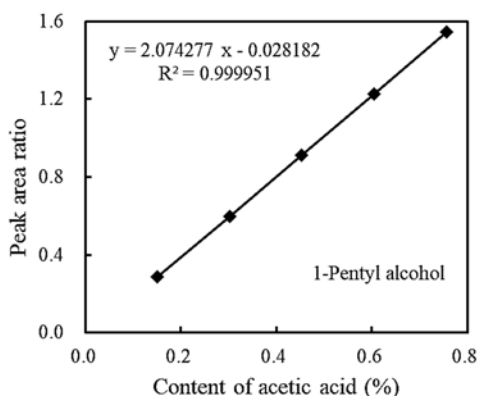


Fig.2 Calibration curve of acetic acid in the measurement using hydrogen as the carrier gas and calculated with 1-Pentyl alcohol as an internal standard substance.

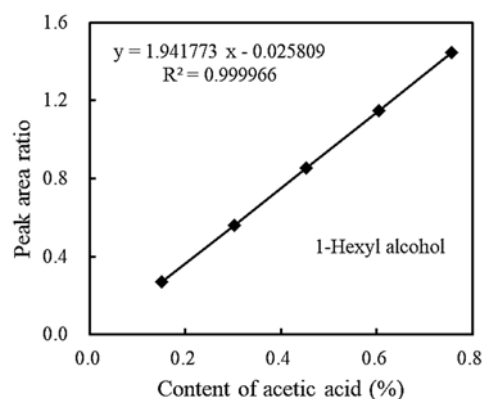


Fig.3 Calibration curve of acetic acid in the measurement using hydrogen as the carrier gas and calculated with 1-Hexyl alcohol as an internal standard substance.

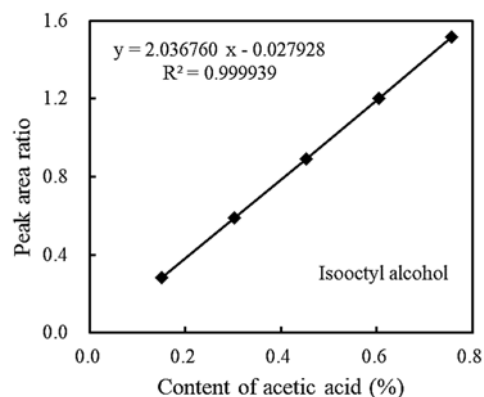


Fig.4 Calibration curve of acetic acid in the measurement using hydrogen as the carrier gas and calculated with Isooctyl alcohol as an internal standard substance.

3.2 定量下限及び検出限界の検討

2.4.2 で調製し 2.3.1 及び 2.3.3 の条件で測定した検量線用溶液のうち, 2.4.3 の方法で調製した場合の酢酸含有量 0.045~0.76% に相当する検体の検量線を Fig. 5 に示す. この範囲における検量線は相関係数 0.9999 で良好な直線性を示した. この濃度範囲より低い濃度を含めて検量線を作成すると相関係数 0.9999 を下回った (Fig. 6). このことから, 定量下限は, 2.4.3 の方法で調製した場合の酢酸含有量 0.045% であると考えられる.

2.4.2 で調製した検量線用溶液のうち, 2.4.3 の方法で調製した場合の酢酸含有量 0.003% に相当する検体のクロマトグラムを Fig. 7 に示す. キャリアガスに水素を用いた GC 法の場合, 本研究においてこの濃度までは酢酸のピークを検出することが可能であった.

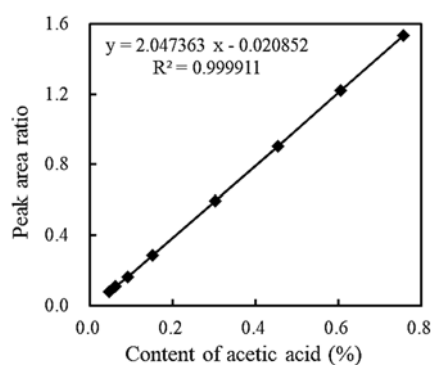


Fig.5 Calibration curve of acetic acid in the range of 0.045 - 0.76% when calculated for a sample collection of 10 grams.

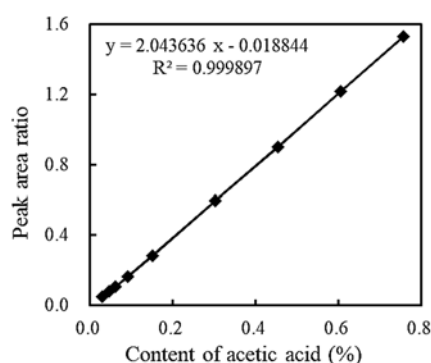


Fig.6 Calibration curve of acetic acid in the range of 0.030 - 0.76% when calculated for a sample collection of 10 grams.

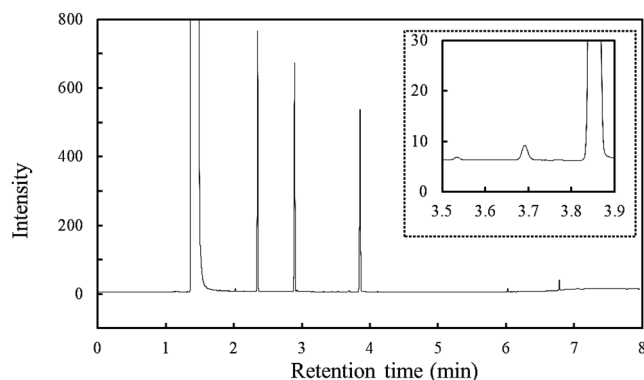


Fig.7 Gas chromatogram of an acetic acid solution at 0.003% when calculated for a sample collection of 10 grams.

2.4.2 で調製し 2.3.1 及び 2.3.2 の条件, すなわちヘリウムをキャリアガスとした条件においても検量線用溶液を測定し, 検量線を作成した. これらの検量線用溶液うち 2.4.3 の方法で調製した場合の酢酸含有量 0.030~0.76%に相当する検体の検量線は相関係数 0.9999 を上回ったものの (Fig. 8), この濃度範囲より低い濃度を含めて検量線を作成すると相関係数 0.9999 を下回った (Fig. 9). また, 2.4.2 で調製した検量線用溶液のうち, 2.4.3 の方法で調製した場合の酢酸含有量 0.0006%に相当する濃度まではクロマトグラム上でピークを検出可能であった (Fig. 10) ことから, キャリア

ガスにヘリウムを用いた場合, 定量下限は 2.4.3 の方法で調製した場合の酢酸含有量 0.030%, 検出限界は酢酸含有量 0.0006%であると推定された.

以上のことから, GC 法においてキャリアガスに水素を用いると, ヘリウム使用時と比較して感度は劣るものの, 分類基準である 0.5% 付近の濃度範囲においては十分定量が可能であると考えられる.

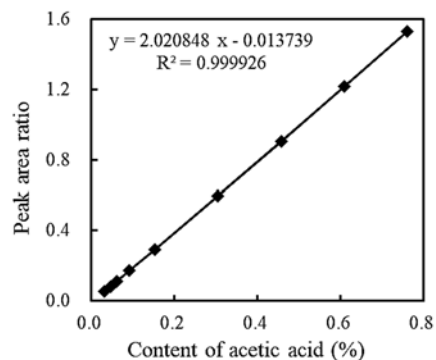


Fig.8 Calibration curve of acetic acid in the range of 0.030 - 0.76% when calculated for a sample collection of 10 grams.

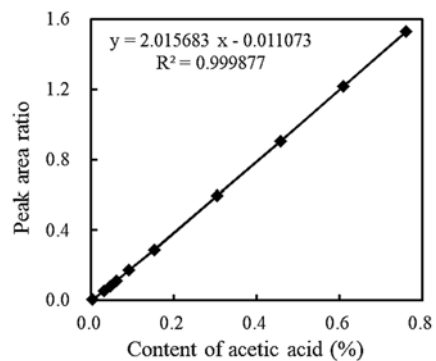


Fig.9 Calibration curve of acetic acid in the range of 0.003 - 0.76% when calculated for a sample collection of 10 grams.

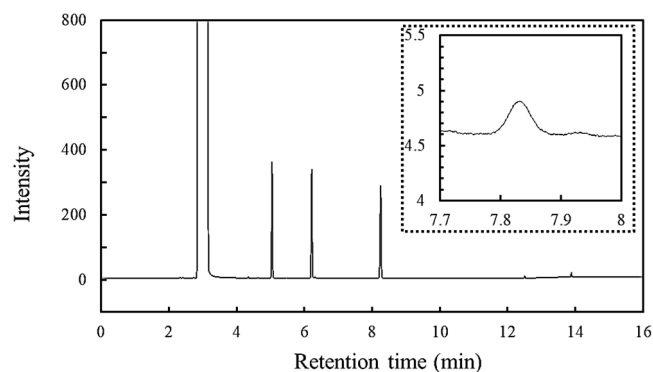


Fig.10 Gas chromatogram of an acetic acid solution at 0.0006% when calculated for a sample collection of 10 grams.

3.3 各キャリアガスにおける各試料の酢酸定量結果の比較

2.4.3 で調製した模擬試料、市販試料 1 及び市販試料 2 を 2.3 の条件で測定し定量した結果を Table 1 に示す。また、各試料について各測定の定量値の範囲を Fig. 11 に示す。GC 法において、キャ

リアガスに水素を用いても、ヘリウム使用時と遜色ない定量値が得られた。これらの結果を統計的に確認するため、各キャリアガス使用時の間で t 検定を実施したところ、いずれも $p > 0.05$ となり、信頼区間 95% で有意差は認められなかった。

Table 1 Results of the quantitative analysis of acetic acid in simulated samples and commercially available samples.

Sample type	Number of samples	Carrier gas	Acetic acid content (mean, %)	RSD (%)
Simulated sample	5	H ₂	0.51	0.04
		He	0.52	0.07
Commercially available sample 1	8	H ₂	0.86	0.01
		He	0.88	0.02
Commercially available sample 2	12	H ₂	0.08	0.04
		He	0.08	0.09

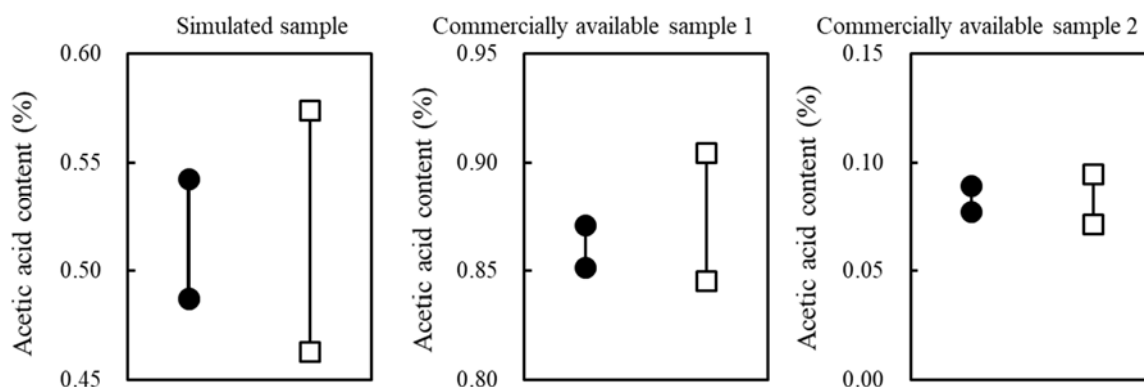


Fig.11 Acetic acid content range of simulated samples and commercially available samples: ●; quantified using hydrogen as the carrier gas, □; quantified using helium as the carrier gas.

4. 要 約

本研究において、キャリアガスに水素を用いた GC 法を検討し、酢酸を定量するための測定条件を見出した。内標準物質として、既報の 1-ペンタノール他 1-ヘキサノール及びイソオクチルアルコールを用いても、酢酸定量用の検量線は良好な直線性を示した ($R^2 > 0.9999$)。

キャリアガスにヘリウムを用いた場合と比較すると定量下限及

び検出限界の点で若干劣るものの、模擬試料及び市販試料中の酢酸の定量の結果、キャリアガスに水素を用いて得られた定量値は、ヘリウム使用時において得られた定量値と比較して、分類基準の 0.5% 付近のみならず、基準値を大きく上回るサンプルや下回るサンプルについても有意差がないことが確認できた。以上の結果から、酢酸を定量するための GC 法のキャリアガスとして水素を使用することが可能であると考えられる。

文 献

- 1) 斎藤義和, 河嶋優美, 松本啓嗣, 山崎幸彦: 関税中央分析所報, **51**, 17 (2011).
- 2) 五十嵐智大, 中西理紗, 片山貴之: 関税中央分析所報, **59**, 5 (2019).
- 3) 代島茂樹 (アジレント・テクノロジー株式会社). “水素キャリアガスによる GC/MS 分析の基礎”. https://chem-agilent.com/pdf/323GC_H2Carrier_GC-MS.pdf, (参照 2024-03-01)