



Sezen Çepel

Yüksek Kimyager / Chemist, MSc
Satış Mühendisi / Sales Engineer
Ant Teknik Cihazlar

Doğal ve Sentetik Ürünler Kütüphanesi (Ffnsc) ile Aroma ve Esans Analizleri

Analysis of Aroma Compounds and Fragrances by Using Flavour & Fragrance Natural & Synthetic Compounds (Ffnsc) Gcms Library

Gıda ve içeceklerde aroma bileşikler, kozmetik ve parfümeride ise esanslar, doğal ve sentetik bileşiklerden üretilen kompleks yapılardır.

Gaz Kromatografi Kütle Spektrometri (GC/MS) tekniği, aroma ve esans analizleri için sıklıkla karşımıza çıkmakta ve GCMS spektrumlarının bulunduğu bir kütüphane vasıtasıyla bilinmeyen bileşenlerin tayini için de kullanılabilmektedir.

Ancak, standart GCMS kütüphanelerinde kayıtlı aroma ve esans bileşenleri sayısı yeterli değildir. Bilinmeyen bir numune; özellikle de numune birçok izomer ve birden fazla matriks içermekte ise, yalnızca spektral benzerlikten faydalanan geleneksel kütüphane ile tarama yapmak, tanımlanması güç birçok bileşiği olasılık olarak sıralamaktadır.

Aroma compounds in food and beverages, and fragrances in cosmetics and perfumes are complex structures derived from natural and synthetic compounds.

GCMS is commonly used for flavor and fragrance analyses, and searching a library of GCMS spectra is convenient for identifying unknown components. However, typical GCMS libraries contain an insufficient number of registered flavor and fragrance components.

Additionally, the resemblance in mass spectra of some compounds causes difficulty in identification. The FFNSC library, created using Shimadzu's GCMS-QP2010 series by Prof. Mondello's group (Messina University, Italy), utilizes the GCMSsolution software function that allows users to sort candidate compounds by retention index, following a library search of mass spectra, making it ideally suited for flavor and fragrance analysis.



Şekil 1. GCMS-QP2010
Ultra Gaz Kromatografi
Kütle Spektrometre Sistemi

Figure 1. GCMS-QP2010
Ultra Gas Chromatography
Mass Spectrometer

Alıkonma İndeksleri ile Benzerlik Taraması

İtalya Messina Üniversitesi'nde Prof. Dr. Mondello'nun grubu tarafından elde edilen GC/MS verileri ile oluşturulan FFNSC 2 Kütüphanesi bilinmeyen aroma bileşiklerinin güvenilir bir şekilde tanımlanması için geliştirilmiştir. GCMSsolution yazılımı, FFNSC GC/MS Kütüphanesinde kayıtlı alıkonma indekslerini kullanarak "alıkonma indeksleri ile benzerlik taraması"ndan faydalanmaktadır. Bu fonksiyon, kompleks numuneler için bile, daha güvenilir ve kolay tarama yapılmasına olanak sağlar. Sonuçlar elektronik raporlar veya çıktı şeklinde alınabilmektedir.

Shimadzu FFNSC (Flavour and Fragrance Natural and Synthetic Compounds Library) GC/MS Kütüphanesinde 3,000 farklı aroma bileşiğinin kütle spektrumları ve alıkonma indeksleri bulunmaktadır.

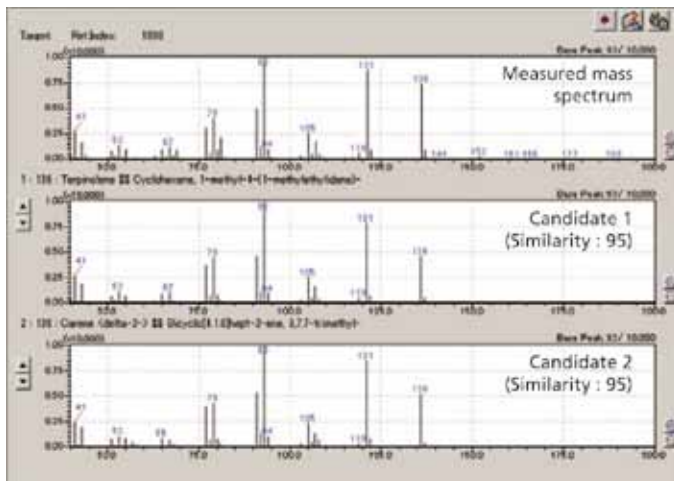
Alıkonma indeksi belirli bir analitik kolon için bileşiğe özgü ayırt edici bir bilgidir. Her bir bileşik için bu spesifik indeks değeri, bir alkan standardının alıkonma zamanları dikkate alınarak belirlenmiştir. N-alkan standart karışımı kullanılarak yapılan analiz bilinmeyen numunelere ait alıkonma indekslerinin belirlenmesi için gereklidir.

Alıkonma İndeksi ile Filtreleme

Aroma bileşikleri, genellikle benzer kimyasal yapılar içeren bileşiklerden oluştuğundan, yalnızca kütle spektrumu kullanılarak gerçekleştirilen kütüphane taramalarında birbirine benzer, birden fazla aday bileşiğe ait sonuçlar sıralanmaktadır. Alıkonma zamanı ile filtreleme, aday bileşikler alıkonma indekslerine göre sıralar ve bu sayede daha hassas tanımlama yapılmasına olanak sağlar.

Ölçülen spektrum (alıkonma indeksi 1090) ve kütüphane taramasında yüksek skor veren aday bileşiklerin kütle spektrumları

The measured spectrum (retention index 1090) and the spectra of compounds with a high score running a library search



Similarity Search by Using Retention Index

The data registered in FFNSC 2 contain the linear retention index (LRI) for every compound. The retention time, in addition to the mass spectrum, is important information for identification. GCMSsolution searches using both mass spectrum and retention index, significantly improving the reliability of identification. All data registered in FFNSC 2 libraries have been obtained using the Shimadzu GCMS-QP2010 series.

Shimadzu FFNSC (Flavour and Fragrance Natural and Synthetic Compounds Library) GC/MS Library FFNSC 2 has been expanded to include 3,000 mass spectra and retention index providing great support for flavor and fragrance analysis.

Filtering with Retention Index

Since flavor and fragrance components sometimes contain compounds having similar chemical structures, multiple compounds with similar mass spectra are listed as candidates when performing a library search using only the mass spectrum. Filtering with the retention index sorts the candidates by retention index, thereby providing highly accurate identification results.

Basit kütüphane taraması sonucu
Simple library search results

1	95	☒	1086 Terpinolene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(
2	95	☐	1000 Carene <delta-2> \$\$ Bicyclo[4.1.0]hept-2
3	94	☐	1018 Terpinene <alpha> \$\$ 1,3-Cyclohexadiene,
4	88	☐	1011 Sylvestrene <iso> \$\$ Cyclohexene, 1-met
5	88	☐	1009 Carene <delta-3> \$\$ Bicyclo[4.1.0]hept-3
6	87	☐	1335 Elemene <delta> \$\$ Cyclohexene, 4-ethen
7	87	☐	1145 Ocimene<neo-allo> \$\$ 2,4,6-Octatriene, 2,
8	86	☐	902 Santolinatriene \$\$ 1,4-Hexadiene, 3-ethen

Alıkonma indeksi ile filtrelemeden sonra elde edilen sonuç
Result after filtering with the retention index
(retention index allowance: ± 10)

1	95	☒	1086 Terpinolene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(
---	----	-------------------------------------	---

Searching both the MS spectrum and retention index enhances reliability of identification.

Hızlı GC/MS ile Aroma/Esans Analizi

Hızlı GC/MS analiz sürelerini kısaltarak laboratuvar verimliliğini yükseltmenin etkin bir yoludur. Hızlı GC/MS sistemleri kapiler kolonlarla uyumlu, yüksek performanslı akış kontrolörü (AFC) ile yüksek hızlı veri toplama teknolojisine sahip cihazlardır. Shimadzu GC/MS sistemleri bu gereksinimleri karşılayacak yüksek performans seviyelerine sahiptir. Aşağıdaki örnekte lavanta yağının geleneksel yöntemler ve hızlı GC/MS metodları ile analizleri gösterilmektedir.

Analiz Koşulları

Geleneksel GC/MS

GC-MS: GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu)
Kolon: Rtx-5MS (30 m x 0.32 mm iç çap, 0.25 µm)
Cam insert: Deaktive cam yünü split insert

[GC]

Buharlaştırma haznesi sıcaklığı: 250°C
Kolon fırını sıcaklığı : 50 C (0 dk) -> 250°C (10 dk)
Enjeksiyon modu : Split
Taşıyıcı gaz : Helyum
Kontrol modu : Lineer hız (47.2 cm/sn)
Split oranı : 100
Enjeksiyon miktarı : 2.0 µL

[MS]

Arayüz sıcaklığı : 250°C
İyon kaynağı sıcaklığı : 200°C
Ölçüm modu : Scan
Kütle aralığı : m/z 40-400
Süre : 0.3 sn
Emisyon akımı : 150 µA (yüksek hassasiyet)

Hızlı GC/MS

GC-MS : GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu)
Kolon : Rtx-5 (10 m x 0.10 mm iç çap, 0.1 µm)
Cam insert: Deaktive cam yünü split insert

[GC]

Buharlaştırma haznesi sıcaklığı: 250°C
Kolon fırını sıcaklığı : 70°C (1 dk) -> (25 C/dk)-> 180°C -> (50°C/dk) -> 280°C (1 dk)
Enjeksiyon modu : Split
Taşıyıcı gaz : Helyum
Kontrol modu : Lineer hız (45.0 cm/sn)
Split oranı : 1800
Enjeksiyon miktarı : 1.0 µL

[MS]

Arayüz sıcaklığı : 250°C
İyon kaynağı sıcaklığı : 200°C
Ölçüm modu : Scan
Kütle aralığı : m/z 40-400
Süre : 0.05 sn
Emisyon akımı : 150 µA (yüksek hassasiyet)

Flavor/Fragrance Analysis by Fast-GC/MS

Fast-GC/MS is an effective way to improve laboratory productivity by shortening analysis cycle times. Fast-GC/MS methods require a system with a high-performance AFC controller that is compatible with narrow bore capillary columns and high-speed data acquisition technology. Shimadzu GCMS systems offer the high-performance levels necessary to satisfy these requirements. This application shows results from analyzing lavender oil using conventional methods and Fast-GC/MS methods.

Analysis Conditions

Conventional-GC/MS

GC-MS: GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu)
Column: Rtx-5MS -> 30 mL x 0.32 mm I.D., 0.25 µm->
Glass insert : Split insert with deactivated glass wool

[GC]

Vaporization chamber temperature: 250°C
Column oven temperature: 50°C (0 min) -> (3 C /min) -> 250°C (10 min)
Injection mode : Split
Carrier gas : Helyum
Control mode : Lineer speed (47.2 cm/sec)
Split ratio : 100
Injection quantity : 2.0 µL

[MS]

Interface temperature : 250°C
Ion source temperature : 200°C
Measurement mode : Scan
Mass range : m/z 40-400
Event time : 0.3 sec
Emission current : 150 µA (high sensivity)

Fast GC/MS

GC-MS : GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu)
Column : Rtx-5 (10 m x 0.10 mm I.D., 0.1 µm)
Glass insert: Deactivated glass wool split insert

GC]

Vaporization chamber temperature: 250 C
Column oven temperature: 70 C (1 min) -> (25 C/min)-> 180 C -> (50 C/min) -> 280 C (1 min)
Injection mode : Split
Carrier gas : Hellyum
Control mode : Lineer speed (45.0 cm/sec)
Split ratio : 1800
Injection quantity : 1.0 µL

[MS]

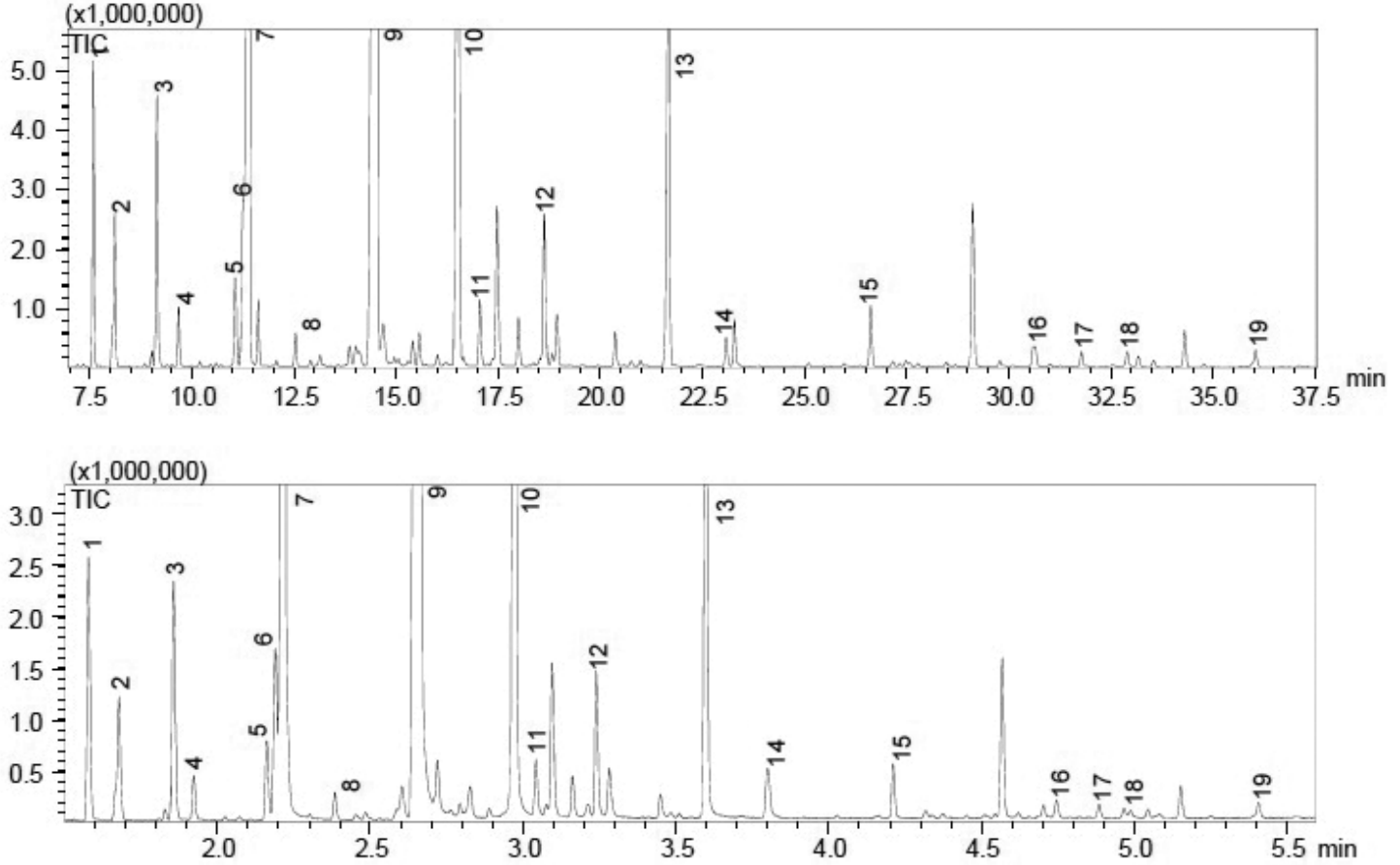
Interface temperature : 250°C
Ion source temperature : 200°C
Measurement mode : Scan
Mass range : m/z 40-400
Time : 0.05 sn
Emission current : 150 µA (high sensitivity)

Sonuçlar

Hızlı GC/MS geleneksel metotlara benzer ayırım özellikleri göstermektedir. Ancak analiz süreleri geleneksel analiz sürelerinin 1/7'si kadardır.

Results

Fast-GC/MS provided separation patterns similar to results from conventional methods, but analysis times were 1/7 of conventional analysis times.



Şekil 2. Geleneksel metod (üstte) ve Hızlı GC-MS metodu (altta) kullanılarak elde edilen toplam iyon kromatogramları
Fig. 2. Total Ion Current Chromatograms Obtained Using Conventional Method (upper) and Fast-GC/MS Method (lower)

No:	Bileşik Adı / Compound Name	No:	Bileşik Adı / Compound Name	No:	Bileşik Adı / Compound Name
1	alpha-Pinene	8	gamma-Terpinene	14	Bornyl acetate
2	Camphene	9	Linalool	15	Neryl acetate
3	Beta-Pinene	10	Camphor	16	(Z)-beta-Farnesene
4	Myrcene	11	Isoborneol	17	Germacrene D
5	Cymene	12	Alpha-Terpineol	18	Beta-Bisabolene
6	Limonene	13	Linalyl acetate	19	Caryophyllene oxide
7	Eucalyptol				

Kozmetiklerde Alerjenlerin GC/MS ve OPTIC-4 Inlet Kullanılarak Kantitatif Analizi

Toplum genelinde alerjik bünyeli bireylerin oranının %1-2'lik olduğu tahmin edilmektedir. 2003 yılında, bu varsayımdan yola çıkılarak Avrupa Birliği'nde alerjik reaksiyonlara yol açabilecek parfüm ve koku maddelerinin kullanımında düzen-

GC/MS Quantitative Analysis of Allergens in Cosmetics Using OPTIC-4

Because an estimated 1 to 2 percent of the population has allergies, in 2003 the EU began regulating the use of perfumes and flavour materials that can cause allergic reactions. These substances are restricted to 0.01 % for

lemeler başlatılmıştır. Bu maddelerin kullanımına şampuan gibi durulanan kozmetik ürünlerde % 0.01, el kremi gibi uygulandığı yüzeyde emilen ürünlerde ise %0.001 olarak sınırlama getirilmiştir. Bu düzenlemelere istinaden, üretici firmaların söz konusu alerjenlerin konsantrasyonlarını miktarsal olarak analiz etmeleri gerekmektedir.

Deney Numune

Alerjen karışımlarının standart numuneleri ve solüsyonda 10 kata kadar seyreltilen bir kozmetik kremin analizi gerçekleştirilmiştir.

Analiz Koşulları

Cihazlar

Inlet : OPTIC-4 (ATAS GL International BV)
Liner : L100011, DMI liner (ATAS GL International BV)
GC-MS : GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu)
Otoörnekleyici : AOC-5000 (Shimadzu)
LINEX (ATAS GL International BV)
Kolon : InertCap 5 MS/Sil (30 m x 0.32 mm iç çap, df=0.5 um) (GL Science)

[Inlet]

Enjeksiyon modu : Split
Dengeleme süresi : 5 sn,
Analiz süresi : 29.5 dk.
Buhar haznesi sıcaklığı : 35 C -> (5 C/dk) -> 250 C (5dk)
Taşıyıcı gaz : Helyum
Kontrol modu : Akış kontrolü
Transfer süresi : 3 dk,
Kolon akış hızı : 1.0 ml/dk,
Split akışı : 100 ml/dk.

[MS]

Arayüz sıcaklığı : 250°C
İyon kaynağı sıcaklığı : 200°C
Solvent elüsyon süresi : 3 dk
Veri örnekleme süresi : 3 – 39.5 dk
Ölçüm modu : Scan
Kütle aralığı : m/z 35-350
Dedektör voltajı : Bağıl değer modu

[GC]

Kolon fırını sıcaklığı : 35°C (3 dk) -> (10°C/dk) -> 250°C (5 dk).

Sonuçlar

Standart Numune Ölçümü

Şekil 3, 4 ve 5 standart numune ölçümlerinin sonuçlarını göstermektedir.

cosmetic products that are rinsed away (such as shampoo) and 0.001 % for products that are left applied (such as hand creams). Due to these regulations, manufacturers now must quantitatively analyze the concentration of such allergens.

Experiment Sample

Standard samples of allergen mixtures and cosmetic cream diluted in solution by ten times were analized.

Analysis Conditions

Instruments

Inlet : OPTIC-4 (ATAS GL International BV)
Liner : L100011, DMI liner (ATAS GL International BV)
GC-MS : GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu)
Autosampler : AOC-5000 (Shimadzu)
LINEX (ATAS GL International BV)
Column : InertCap 5 MS/Sil (30 m x 0.32 mm I.D., df=0.5 um) (GL Science)

[Inlet]

Injection mode : Split
Balancing time : 5 sec,
Analysis time : 29.5 min
Vaporization chamber temperature : 35 C -> (5 C/min) -> 250 C (5min)
Carrier gas : Helium
Control mode : Flow control
Transfer time : 3 min,
Column flow rate : 1.0 ml/min,
Split flow : 100 ml/min.

[MS]

Interface temperature : 250°C
Ion source temperature : 200°C
Solvent elution time : 3 min,
Data sampling time : 3 – 39.5 min.
Measurement mode : Scan
Mass range : m/z 35-350
Detector voltage : Relative value mode

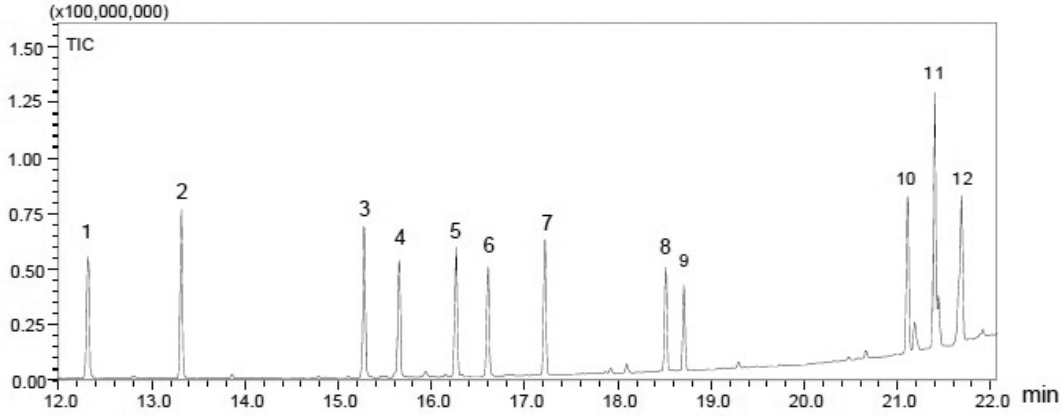
[GC]

Column oven temperature : 35°C (3 min) -> (10°C/min) -> 250°C (5 min).

Results

Standard Sample Measurement

Figures 3, 4 and 5 show the results of measuring 3 standard samples.

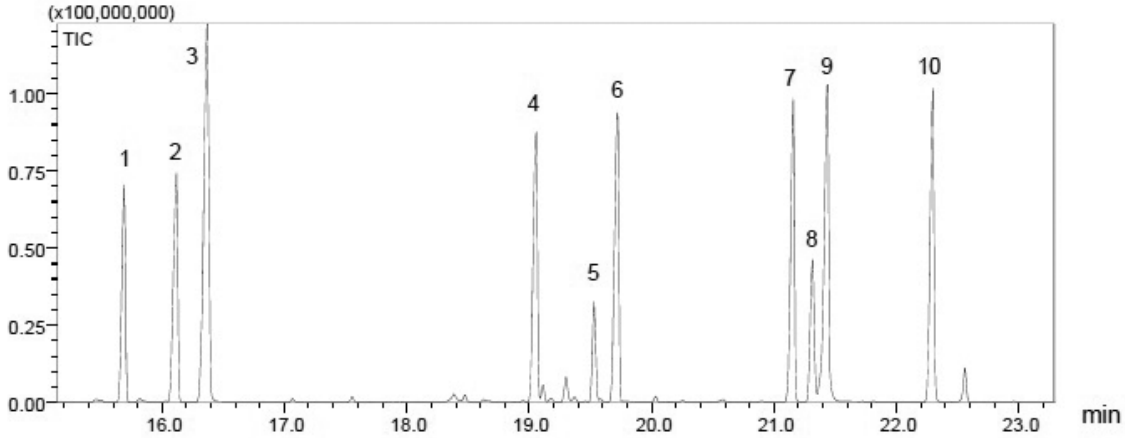


Şekil 3. Alerjen Standart Numune 1'in Ölçüm Sonucu

1. Benzil Alkol, 2. Linalool, 3. Citronellol, 4. Geraniol, 5. Anisyl Alkol, 6. Cinnamyl alkol, 7. Eugenol, 8. Isoeugenol, 9. Amylcinnamyl alkol, 10. Farnesol, 11. Farnesol, 12. Cinnamaldehyde, .alpha. -hexyl -

Figure 3. Measurement Result of Allergen Standard Sample 1

1. Benzyl Alcohol, 2. Linalool, 3. Citronellol, 4. Geraniol, 5. Anisyl Alcohol, 6. Cinnamyl alcohol, 7. Eugenol, 8. Isoeugenol, 9. Amylcinnamyl alcohol, 10. Farnesol, 11. Farnesol, 12. Cinnamaldehyde, .alpha. -hexyl -

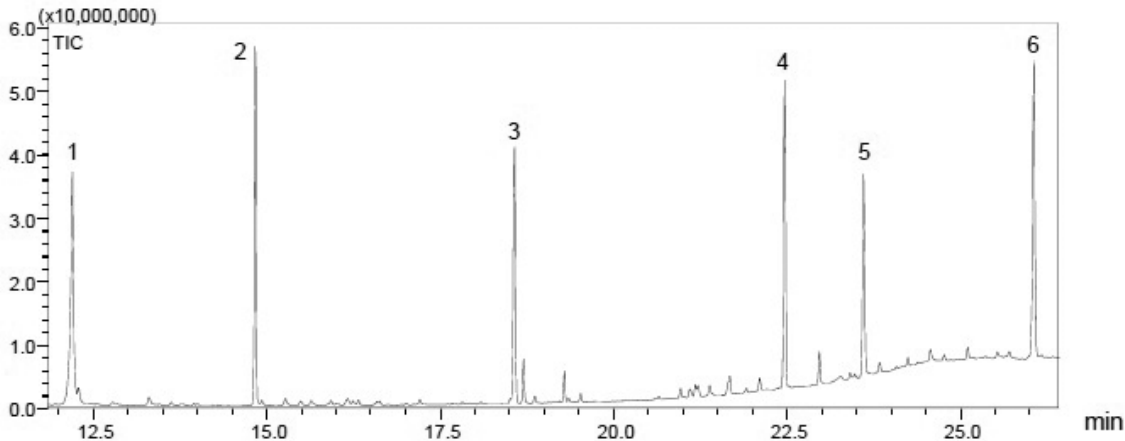


Şekil 4. Alerjen Standart Numune 2'nin Ölçüm Sonucu

1. Citral, 2. Citral, 3. Citronellal, hydroxy -, 4. Alpha.Isomethyl ionone, 5. Linal, 6. Cinnamaldehyde, .alpha. -pentyl - 7. Amylcinnamyl alkol, 8. Lyril (21.111), 9. Lyril (21.238), 10. Cinnamaldehyde, .alpha. - hexyl

Figure 4. Measurement Result of Allergen Standard Sample 2

1. Citral, 2. Citral, 3. Citronellal, hydroxy -, 4. Alpha.Isomethyl ionone, 5. Linal, 6. Cinnamaldehyde, .alpha. -pentyl - 7. Amylcinnamyl alcohol, 8. Lyril (21.111), 9. Lyril (21.238), 10. Cinnamaldehyde, .alpha. - hexyl



Şekil 5. Alerjen Standart Numune 3'ün Ölçüm Sonucu

1. Limonene, 2. Metil 2 - octynoate, 3. Coumarin, 4. Benzil Benzoate, 5. Benzil salicylate, 6. Benzil cinnamate

Figure 5. Measurement Result of Allergen Standard Sample 3

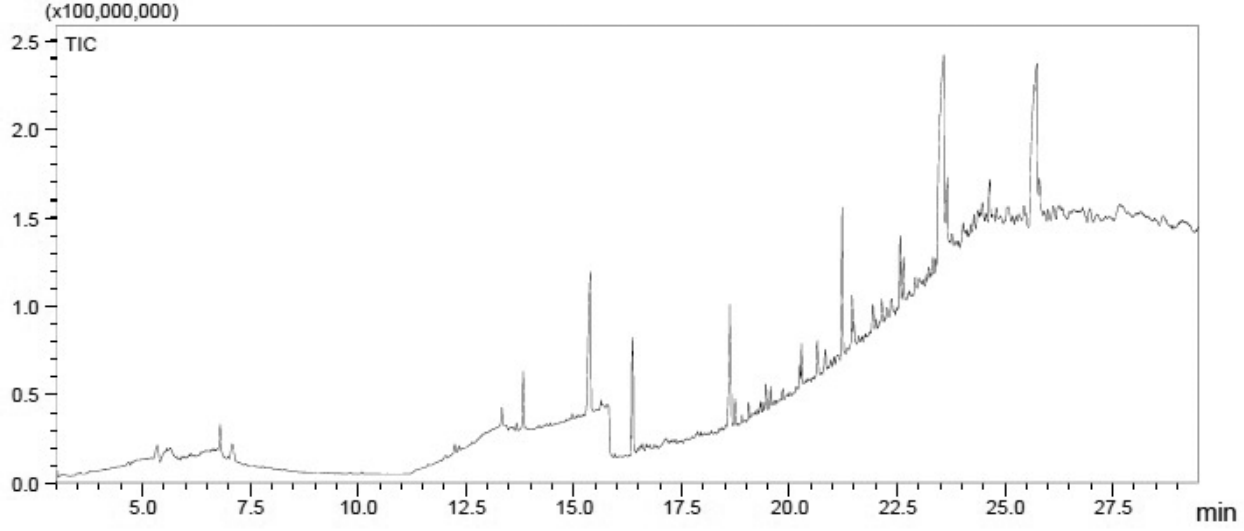
1. Limonene, 2. Metil 2 - octynoate, 3. Coumarin, 4. Benzil Benzoate, 5. Benzil salicylate, 6. Benzil cinnamate

Numune Ölçümü

Şekil 6 kozmetik krem numunesi ölçüm sonuçlarını göstermektedir.

Actual Sample Measurement

Cosmetic cream measurement results are shown in Figure 6.



Bileşik Adı Compound Name	Alıkonma Zamanı (dk) Retention Time (min)	m/z	Alan Area	RSD'ler RSDs	Miktar (µg/ml) Amount (µg/ml)
D-Limonene	12.241	68.00	2525392	%8	30.80
Citral	15.639	41.00	725549	%7	12.92
Geraniol	15.683	69.00	696831	%9	7.02
Citral	15.954	69.00	282420	%5	6.13
Cinnamyl Alcohol	16.634	92.00	51418	%5	1.07
Eugenol	17.246	164.00	101188.00	%6	1.60
.alpha. Isomethyl ionene	18.904	135.00	1563043	%9	13.05
Lilial	19.564	189.00	4009084	%5	40.10
Cinnamaldehyhde, .alpha.-pentyl-	21.000	129.00	370996	%6	7.09
Cinnamaldehyhde, .alpha.-hexyl-	22.145	129.00	3144191	%1	63.36
Benzyl salicylate	23.648	91.00	13512534	%3	67.06

Şekil 6. Kozmetik Krem Ölçüm Sonucu

Figure 6. Cosmetic Cream Measurement Results

Tespit edilen bileşenlere ait toplam iyon kromatogram, alan ve tekrarlanabilirlik değerleri yukarıdaki tabloda gösterilmektedir.

Kozmetik kremdeki alerjenlerin ölçümünde tekrarlanabilirlik ve %RSD değerleri %10 ve altında olarak gerçekleşmiştir. Bu değerler, uygulanan metodun alerjenlerin kantitatif analizi için kullanılabileceğini göstermektedir.

Referanslar

- Shimadzu Uygulama Notu, GCMS No. 32
- Shimadzu Uygulama Notu, GCMS No. 37

The total ion chromatogram and area and repeatability accuracy of detected components are indicated above.

Measuring the allergens in cosmetic cream resulted in repeatability and % RSD values of 10 % or less, which indicated that the given method can be used to quantitatively analyze allergens.

References

- Shimadzu Application Note, GCMS No. 32
- Shimadzu Application Note, GCMS No. 37