

第 334 回ガスクロマトグラフィー研究懇談会特別講演会

「安全・安心な生活と
豊かな文化を支えるガスクロマトグラフィー」

2014 年 12 月 12 日（金）

於：大田区産業プラザ、コンベンションホール

【主催】

（公社）日本分析化学会

ガスクロマトグラフィー研究懇談会（設立 1958 年）

第 334 回 ガスクロマトグラフィー研究懇談会特別講演会

主題：「安全・安心な生活と豊かな文化を支えるガスクロマトグラフィー」

主催：(公社) 日本分析化学会、ガスクロマトグラフィー研究懇談会

日時：12月12日(金) 10:00~19:30

会場：大田区産業プラザ、コンベンションホール

(〒144-0035 東京都大田区南蒲田 1-20-20, <http://www.pio-ota.net/>)

<講演会プログラム>

9:30- 受付開始

10:00-10:05 開会の挨拶

((独)産総研) 前田恒昭

主題講演 1：安全・安心な生活を支えるガスクロマトグラフィー

10:05-10:55 [招待講演 1]

室内空気中の有機リン系難燃剤の分析

(オーヤラックスクリンサービス(株)) 杉寄佑樹

10:55-11:20 [主題講演 1]

GC と農薬分析

(西川計測(株)) 山上 仰

11:20-11:50 [技術講演 1]

1.GC/QTOF が支える安全・安心な生活

(アジレント・テクノロジー(株)) 小笠原 亮

2.QuEChERS 法 (クエッチャーズ法) を用いた GC による食品中の残留農薬の分析

(Restek Corporation) 北見秀明

11:50-13:20 休憩

主題講演 2：豊かな生活を支えるガスクロマトグラフィー

13:20-14:10 [招待講演 2]

清酒の品質と香り成分

((独)酒類総合研究所) 磯谷敦子

14:10-14:35 [主題講演 2]

ビールに特徴的な香りを付与するホップ由来香り成分の解析 (アサヒビール(株)酒類技術研究所) 岸本 徹

14:35-15:20 [技術講演 2]

3.ダイナミックヘッドスペースを用いた Multi-volatile Method (MVM)による飲料中香り成分の網羅的分析

(ゲステル(株)) 角川 淳

4. GC/MS による食品分析手法のご紹介! 産地特定編

(LECO ジャパン合同会社) 西村 泰央

5. スローフードとその網羅的分析法

(ジーエルサイエンス(株)) 宮川浩美

15:20-15:55 休憩

主題講演 3：豊かな文化を支えるガスクロマトグラフィー

15:55-16:45〔招待講演 3〕

ニオイ分析による文化財保存のためのカビ種推定ソフトウェア研究

(奈良女子大学) 竹内孝江

16:45-17:10〔主題講演 3〕

GC/IRMS による酒や燃料中エタノールの炭素と酸素安定同位体比の測定による原料植物の分類

((一財) 日本自動車研究所) 秋山賢一

17:10-17:25〔技術講演 3〕

6. GC/IRMS の基礎

(サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)) 秋山賢一郎

17:25-17:30 閉会のご挨拶

((独)産総研) 前田恒昭

17:40-19:30 意見交換会 大田区産業プラザ 4階、レストラン コルネット

<目次>

主題講演 1：安全・安心な生活を支えるガスクロマトグラフィー

〔招待講演 1〕

室内空気中の有機リン系難燃剤の分析 (オーヤラックスクリーンサービス(株) 杉崙佑樹 … 1

〔主題講演 1〕

GC と農薬分析 (西川計測(株) 山上 仰 … 3

〔技術講演 1〕

GC/QTOF が支える安全・安心な生活 (アジレント・テクノロジー(株) 小笠原 亮 … 9

QuEChERS 法 (クエッチャーズ法) を用いた GC による食品中の残留農薬の分析
(Restek Corporation) 北見秀明 … 13

主題講演 2：豊かな生活を支えるガスクロマトグラフィー

〔招待講演 2〕

清酒の品質と香気成分 ((独)酒類総合研究所) 磯谷敦子 … 17

〔主題講演 2〕

ビールに特徴的な香りを付与するホップ由来香気成分の解析 (アサヒビール(株)酒類技術研究所) 岸本 徹 … 21

〔技術講演 2〕

ダイナミックヘッドスペースを用いた Multi-volatile Method (MVM)による飲料中香気成分の網羅的分析
(ゲステル(株) 角川 淳 … 23

GC/MS による食品分析手法のご紹介！ 産地特定編 (LECO ジャパン合同会社) 西村 泰央 … 29

スローフードとその網羅的分析法 (ジーエルサイエンス(株) 宮川浩美 … 31

主題講演 3：豊かな文化を支えるガスクロマトグラフィー

〔招待講演 3〕

ニオイ分析による文化財保存のためのカビ種推定ソフトウェア研究 (奈良女子大学) 竹内孝江 … 37

〔主題講演 3〕

GC/IRMS による酒や燃料中エタノールの炭素と酸素安定同位体比の測定による原料植物の分類
(一財) 日本自動車研究所) 秋山賢一 … 39

〔技術講演 3〕

GC/IRMS の基礎 (サーモフィッシャーサイエンティフィック(株) 秋山賢一郎 … 45

カタログ展示・広告掲載企業一覧

運営委員名簿

主題講演1：安全・安心な生活を支えるガスクロマトグラフィー

〔招待講演1〕

室内空気中の有機リン系難燃剤の分析

(オーヤラックスクリーンサービス(株) 杉寄佑樹

〔主題講演1〕

GCと農薬分析

(西川計測(株) 山上 仰

〔技術講演1〕

GC/QTOFが支える安全・安心な生活

(アジレント・テクノロジー(株) 小笠原 亮

QuEChERS法(クエッチャーズ法)を用いたGCによる食品中の残留農薬の分析

(Restek Corporation) 北見秀明

室内空気中の有機リン系難燃剤の分析

○杉壽佑樹 (すぎざき ゆうき)¹⁾、上村 仁²⁾、辻 清美²⁾、兼島公香³⁾、杉田和俊³⁾、後藤純雄³⁾

1) オーヤラックスクリンサービス(株)、2) 神奈川県衛生研究所、3) 麻布大学

近年、ライフスタイルが変化し、一日のうち80%以上を室内あるいは類似する空間内で過ごすようになってきた。これらの室内空間には様々な化学物質が持ち込まれ、それらの曝露に起因するとみられるシックハウス症候群などの健康被害が報告されている。室内に持ち込まれる化学物質のひとつに難燃剤が挙げられる。難燃剤は床材、壁紙、布、プラスチック、OA 機器など様々なものに多用されている。このような難燃剤には臭素系、有機リン系及び無機系のものがある。このうち臭素系難燃剤は、少量の添加で大きな難燃効果があるためこれまで大量に使用されてきたが、生分解性が低く身体に蓄積し易い、燃焼して臭素系ダイオキシンが発生するなどの有害性の問題から日本では1990年初頭から使用が減り、2006年にEUで規制(RoHS指令)された。一方、有機リン系難燃剤は有機リン系農薬と比べて毒性が殆んど無いと考えられており、臭素系難燃剤の代替としての使用量が増加してきている。難燃剤として使用されるリン酸トリエステル類の国内での生産量は1989年で約20,000トン(通商産業大臣, 1989)であったものが2010年には43,000トン(経済産業省, 2010)に増加しており、リン酸トリメチルの生産量は約484トン、リン酸トリス 2-クロロエチルでは約144トン、リン酸トリクレジルでは2003年に約22,000トンとなっている。しかし、最近の研究では、有機リン系難燃剤に関し、遅発性の神経毒性(Stauffer Chem. Co., 1981)、発がん性(Matthews H.B, et al., 1993)、接触性アレルギー(Camarasa, J.G. et al., 1992)等の報告があり、健康被害の観点から化学物質過敏症との関連も考えられている。

そこで、本研究は生産量及び消費量が増加しつつあり、シックハウス症候群への影響が懸念される有機リン系難燃剤を対象とした空気中の当該成分の分析方法を検討し、室内の空気中とハウスダスト、及び自動車内空気の汚染実態を把握することを目的とした。

分析方法と測定対象物質：有機リン系難燃剤の測定にはガスクロマトグラフ質量分析計(6890N/5973: Agilent社製及び2010/QP2010 Plus: Shimadzu社製)を使用した。測定対象はリン酸トリメチル(TMP)、リン酸トリエチル(TEP)、リン酸トリ-n-プロピル(TPP)、リン酸トリ-n-ブチル(TBP)、リン酸トリフェニル(TPHP)、リン酸トリス 2-ブトキシエチル(TBEP)、リン酸トリス 2-クロロイソプロピル(TCIPP)、リン酸トリス 1,3-ジクロロ-2-プロピル(TDCPP)、リン酸トリス 2-クロロエチル(TCEP)、リン酸トリス 2-エチルヘキシル(TEHP)リン酸トリクレジル(TCP)の11種とした。

カラムの検討：GC/MS測定を行うためにカラムの選択を行った。HP-1MS、HP-5MS及びDB-17の3種のカラムでの分離能等の比較を行った。TICクロマトグラムから、HP-1MSはベースライン上昇に伴って、分離が不十分であることが認められた。次に、標準溶液(0.05mg/l)でのHP-5MS及びDB-17SIMクロマトグラムを比較した。HP-5MSで得られたクロマトグラムはピーク形状が崩れ、低濃度まで定量できないことが判った。これに対し、DB-17カラムを用いた場合にはピーク形状も良く低濃度でも対象物質が良好に分離することが判った。更に0.01mg/lでも対象物質のピークが良好であったことから、以降の検討ではDB-17カラムを使用することとした。

捕集材の検討：空気中の有機リン系難燃剤のサンプリングは試料採取ポンプに捕集材をセットして行うため、使用する捕集材の選定を行った。捕集材としてEmpore™Disk SDB-XD(以後SDB-XD; 3M社製)、Empore™Disk C18(以後C18; 3M社製)、AERO Le Cartridge SDB400HF(以後SDB400HF; ジーエルサイエンス社製)の3種類を選び、有機リン系難燃剤の回収率を比較した。石英繊維フィルターに標準溶液を添加し、各フィルターホルダー前段にセットした。後段に3種類の捕集材を各々セットして10/minの空気吸引速度で24時間吸引した。各捕集材によるそれぞれの回収率は、70%以上となった。全体の回収率の平均値と標準偏差を比較するとSDB-XDとC18が90%以上で良好であった。次に、SDB-XD

と C18 を用いて室内空気を吸引し、各ピーク形状を比較した。その結果、C18 では内部標準物（アセナフテン）のピーク形状に影響が認められたため、今回は SDB-XD を捕集材に使用することにした。

実際の捕集ではフィルターホルダー前段に石英繊維フィルター（300°C/2hr 加熱済）、後段に SDB-XD をセット後、室内空気採取用ポンプ（SP208 10L：ジーエルサイエンス社製又は MP-Σ300N：柴田科学社製）を接続し、10/min で 24 時間室内空気を吸引した。自動車室内空気採取ではポンプ（GSP-300FT-2；ガステック社製）を接続し、0.20/min で 6 時間自動車室内空気を吸引した。

サンプリング後、石英繊維フィルターと SDB-XD を別の試験管に入れ、アセトンを 5ml 加え、内部標準物質のアセナフテン-d10（10mg/l）を 20μl 添加し、超音波で 10 分間抽出した。抽出液をろ過フィルターでろ過した後、遠心エバポレーターで濃縮し、1ml とした。これを GC/MS の分析試料とした。

ハウスダスト試料の抽出条件：ハウスダストについて添加回収試験を行った。あらかじめアセトンで洗浄したハウスダスト 0.05 g に混合標準溶液を添加し、回収率を求めた。回収率はすべての化合物で 90% 以上となり変動係数も小さく（8%未満）、良好であった。また、抽出を 5 回繰り返したが、3 回目以降は定量下限値以下となった。以上によりアセトンを加えて 3 分間の超音波抽出を 2 回行うことでハウスダスト中に含まれている難燃剤成分の抽出されることが確認された。

実際のサンプリングはハウスダストを未使用のゴミパックを取り付けた掃除機で採取した。採取したハウスダストは 48 メッシュのふるいにかけ、振とう機（10min×6 回）で振とうさせ出来るだけ均一化し、髪の毛や石などを除いた粒径 300μm 以下のものを 0.05g 秤取した。検討した方法を用いて抽出操作を行い、遠心エバポレーターを用いて液量 1ml に濃縮し、GC/MS の分析試料とした。

室内空気及びハウスダスト中の有機リン系難燃剤の存在実態：2009 年 11 月から 2011 年 12 月にかけて、冬期 14 試料、夏期 24 試料の室内空気採取を行った。冬期の一般家庭の室内空気（14 件）とハウスダスト（7 件）では空気中から検出された有機リン系難燃剤は 7 種類であった。そのうち 5 件以上の家庭から TEP、TBP、TCIPP 及び TCEP の 4 種類が検出され、TBEP、TDCPP 及び TCP の 3 種類が一部で検出された。ハウスダストからは TCIPP、TCEP、TEHP、TBEP、TDCPP、TPHP、TCP の 7 種類が検出された。特に TBEP が高濃度で検出された。夏期の一般家庭の室内空気（22 件）とハウスダスト（6 件）では、空気中から TEP、TBP、TCIPP、TCEP、TBEP、TDCPP 及び TPHP の 7 種類が検出され、TCIPP と TCEP はすべての家から検出された。ハウスダストからは TBP、TCIPP、TCEP、TEHP、TBEP、TDCPP、TPHP 及び TCP の 8 種類が検出された。

夏冬同一の場所でサンプリングを行った 11 件の室内空気中から検出された有機リン系難燃剤濃度はほとんどの家庭で夏期に高かった。従って、室内の平均気温が高いことで家庭用品などから放散され易くなっているものと考えられた。冬期の有機リン系難燃剤濃度に対する夏期の濃度は 0.4~16.8 倍（平均：4.9 倍）となり、最大濃度比は 16.8 倍で夏期のほうが高濃度になることが認められた。一方、夏期と冬期のハウスダスト（5 件）中の難燃剤濃度を比較すると、冬期に対する夏期の濃度は 0.27~2.67 倍（平均：1.1 倍）で、夏期に若干高い傾向がみられた。例外はあるが、気温の低い冬ではハウスダストに比較的多く存在するということが考えられた。

自動車内空気中の有機リン系難燃剤の存在実態：2010 年 7 月から 2011 年 8 月にかけて自動車室内空気捕集を行った。自動車内空気（合計 32 台）では TMP、TPP 以外の 9 物質が検出された。発がん性を示す TCEP は 2008 年式以前の 17 台のうち 14 台から検出され、その濃度は 33ng/m³~6,547ng/m³、2008 年式以降の 15 台中 8 台から検出され、4ng/m³~942ng/m³であった。以上の結果から、発がん性を示す TCEP から生体影響の少ない TCIPP への移行が示唆された。

まとめ：発がん性を示す物質である TCEP は、夏期のすべての室内空気中から検出され、室内空気中と自動車内から検出された最も高い濃度は室内空気中で 259ng/m³、自動車室内空気中で 6,547ng/m³であった。この結果から、自動車などの閉鎖的空間内での有機リン系難燃剤の曝露を低減するための対策が必要であることが考えられる。

GCと農薬分析

西川計測株式会社 山上 仰 (やまがみ たかし)

はじめに

1939年にミュラー氏によって殺虫効果が発見された DDT は農薬として最初に使用された化学合成物質です。後に同氏はこの功績によりノーベル生理・医学賞を授与されており、DDT の農薬への応用が、衛生・医療あるいは農業に対して極めて大きな貢献をしたことを物語っています。以来多くの農薬が化学合成され、2006年の時点では世界で使用・流通している農薬は約 700 種類近くとされています(注：農薬には化学合成物質以外に天敵農薬などが存在しますが、ここでは一律「農薬」と表記します。分析に関わる記述での農薬は、化学合成農薬を指します)。

食料の安定的供給および農作業労働の軽減などの見地から、農薬は現代農業にとっては必要不可欠なものと言えましょう。一方、これら農薬はなんらかの生理作用を有しているため、ヒトあるいは生態系への影響が懸念され、リスクマネジメントにも十分な考慮をしなければなりません。かつて農薬として使用された化合物で、現在使われなくなったものの中には、その薬効の是非もさることながら、リスクの面から使用禁止になったものも少なくないと考えられます。冒頭に挙げたように大きな絶賛をもって迎えられた DDT も、1962年にカーソン氏によってその他いくつかの塩素系化合物とともに危険性が指摘されたのを契機にその使用が次第に制限されるようになり、2001年にストックホルム条約により POPs (Persistent Organic Pollutants) 指定を受けて、現時点ではマラリア蔓延地域での使用が許可されているのみとなっているのは残念な事実です。

農薬はその使用目的を勘案すると、他の化学物質に比べて食物残留あるいは環境(特に河川)への流出が起る可能性が高いと想定されること、および上記 DDT 等塩素系化合物の事例などを踏まえて、日本では農薬使用にともなう安全性を担保するために種々の法的規制がかけられています。使用・流通に関しては農薬取締法があり、同法に基づき登録された農薬のみ使用が可能になっています。登録に際しては、多岐に渡る安全性に関する項目を満たすことが要件になっており、2014年時での登録数は約 400 種類になります。他方、食品あるいは水道水などヒトが直接的に飲食するものに対しては、前者に関しては食品衛生法により基準項目として、後者については水道法で要監視項目(2014年時)として規制が設けられています。また、公共用水域など(河川水や地下水)については環境基本法あるいは水質汚濁防止法などにより規制項目が設定されています。これら規制項目数は、登録農薬数(したがって国内で使用される農薬数)の増加とあいまって、規制設定時から何度かの改訂を経て増加していき、特に食品衛生法における規制項目数は 1991 年を境に急増し、2004 年時点で約 250 種類、ポジティブリスト制施行後の 2006 年には国外で使用されている農薬も対象となった関係で、約 600 種類に基準値が設定されています。

これら農薬の測定については、従前は GC と選択型検出器の組み合わせが主要な地位を占めていましたが、測定対象成分数の増加と機器のハードウェア/ソフトウェアの進歩がマッチした結果、最近では GC/MS(MS)および LC/MS/MS による多成分一斉分析が広く普及するに至っています。筆者は立場上何度か GC/MS を用いた農薬分析に触れる機会がありました。ここでは、経験則的な農薬分析の概要とこれまで筆者が関わった測定例のなかで印象に残ったもののいくつかを取り上げてお話しします。

農薬分析の特徴

農薬分析は以下のように特徴づけられると考えます。

(1)測定対象成分の物理化学的性質の多様性

基本的に生理活性でグループ分けされた化合物群ですから、その化学構造は多彩です。主な構造的分類としては、塩素系、リン系、カーバメート系、ピレスロイド系、ジチオカーバメート系、トリアジン系、酸アミド系、フェノキシ酢酸系などが挙げられます。これらは同一グループ内では類似の基本骨格を有しているものもありますが、グループ間では構造が大きく異なるため、物理化学的性質にも大きな差があるものも少なくありません。さらに同一の基本骨格であっても、修飾している基によっては性質に差が出るケースも多々あるように思います。

(2)微量分析

例えば、最近の食品中の残留農薬については、総じて 0.01ppm (ポジティブリスト制における一律基準) が検出下限として要求されます。一方、水道水などの水試料に関してはさらに一桁から二桁ほど低いレベルでの検出が必要になります。分析技術上は、水試料では食品に比べて共存する有機物が少なく、数百倍の濃縮が可能なることから測定システムが同じ仕様でも検出下限のギャップを埋めることはできます。

(3)マトリックスの共存

ほぼ全てのケースで最終検液にも多くの試料由来のマトリックスが共存します。特に多成分分析では前処理での精製に限界があるため、この傾向がより強くなります。

(4)名称が複雑

同一有効成分に対して複数の名前が存在する場合があります。分析には直接的な関係はありませんが、覚えるのが大変です。

上記(2)および(3)から、農薬分析に用いる測定システムには高感度、(高)分離、および選択的検出が要求されることがわかります。一方、最初に法的基準が設けられた時代(主なものとして食品衛生法 1968 年、水道法 1958 年など)の分析装置の事情を考えると、これらの要素を満たす測定システムはほぼ GC と選択型検出器の組み合わせのみであったと言っても過言ではないのかもしれませんが(HPLC のこの分野への普及はもう少し待たなければなりません)。実際、基準が設定された以後、しばらくの間は選択型検出器付 GC

が農薬分析の主流として活躍しました。その一方、「選択性」は同時に検出できる化合物数に限界があることも示唆しています。

やがて、①測定対象成分の増加にともなうより多くの化合物の同時検出へのニーズの高まり、②キャピラリカラムの普及により広範な沸点範囲の化合物を等質なピーク形状と分離で溶出できること、および③1993年の上水試験法における農薬および揮発性有機化合物の測定法としてのキャピラリ GC/MS 法の採用、などの理由(おそらく③がもっとも大きい)から、これらの選択型検出器は、多くの化合物に感度を有しかつ選択的な検出が可能な MS に取って代わられていき、現在は GC/MS による多成分一斉分析が広く普及していることは先に述べた通りです。

分析が多成分化すると、この項の冒頭で触れた農薬の物理化学的性質の多様さが問題点として浮上します。具体的には測定が必要な化合物のうち、どこまでが無理なく GC/MS で一斉分析化できるかは考慮する必要があり、この選択によっては一斉分析の可否あるいは使用する装置およびパラメータの堅牢性(マージン)が変わると考えられます。この点に関して、個人的には以下の4点に着目しています。

(1)沸点/蒸気圧

揮発性に関わっており、GC 条件および前処理プロセスに影響します。これらの直接的な値の情報が得られない場合がありますが、揮発性のもう一つの目安となる分子量も判断材料にはなりません。この観点から見る限り、農薬は臭化メチル(化学的分子量 95)あるいは酸化フェンブタスズ(同 1053)などの一部例外を除いて 200~550 程度に集まっており、以下の(2)~(4)項との兼ね合いにもよりますが、GC での一斉分析上有利と考えられます。

(2)熱安定性

測定システムもしくは注入法の選択/パラメータに関与します。この点については、化合物ベースになることが多く、事前に予測が立てにくく、経験則が頼りになる場合が多いように思います。

(3)極性官能基の有無

高極性基を有する化合物の微量分析は GC には不適です。例えば、カルボン酸を有する化合物は不可と判断します。なんらかの誘導体化操作は GC に適用するうえには有効ですが、一斉分析の前処理操作からは逸脱します。

(4)溶解性

直接的には GC への可否に関係ありません。前処理のデザインに影響します。一般的に GC/MS を用いた一斉分析の前処理は、ある程度 LogK(水/オクタノール分配係数)が大きく、したがって脂溶性のある化合物を対象として組み立てられていますので、水溶性の高い化合物は低回収を示しがちです。なお、水溶性の高い化合物は項目(3)で述べた高極性基を有していますので、結果的にたいていの場合には GC に不適です。

以上、分子量が 200～500 程度かつ(2)から(4)の要件が全て満たされている化合物であれば、前処理操作も含めて無理無く一斉分析に組み込めると予測できます。

ゴルフ場農薬とクールオンカラム注入法

1990 年、ゴルフ場で使用されている農薬についてゴルフ場排水口および水道水原水に対して、水質汚濁防止に係わる暫定指導指針として 21 成分が指定されました。Fig.1 はこの 21 成分のうち GC/MS で測定可能な 18 成分（数字が付されたピーク）のクールオンカラム注入法による GC/MS を用いた測定例です。

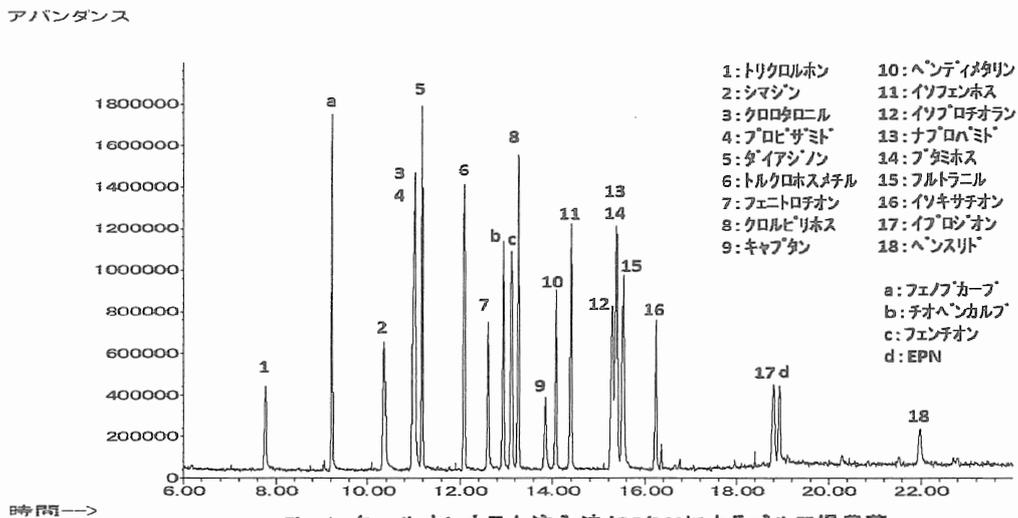


Fig. 1 クールオンカラム注入法/GC/MSによるゴルフ場農薬

本アプリケーションは既に 25 年ほど前のものですが、おそらくはこの種の測定としては初めてキャピラリー GC/MS が公定法として取り上げられた例として印象に残ったものです。また、本例は前項「無理の無い」一斉分析からは若干外れている点でも記憶に残っているように思います。問題となるのは、トリクロロホン (#1) およびベンスリド (#18) です。前者は加熱型注入口で熱分解し易く当時としてはスプリットレス法では検出が困難でした。したがって注入法が、スプリットレス法に比べて夾雑物に対する堅牢性で劣るクールオンカラム注入法に限定されました。また、ベンスリドに関しては、液相の極性が 5%フェニル以上で膜厚が 0.25 μm 程度になるとピークとして溶出しないことが(後に)判明し、結果的にカラムの選択性を著しく狭めていたこととなります。

現在ではトリクロロホンについては、注入ライナーの工夫および高圧注入の組み合わせにより、スプリットレス法での検出が可能になっています。一方、ベンスリドに関しては HPLC に優位性があると思われます。

ポジティブリスト制と多成分一斉分析

「はじめに」でも述べましたが、食品中の農薬規制については 2006 年のポジティブリスト制の導入により、大きく状況が変化しました。従前は、「基準値を超えて存在してはなら

ない物質」がリスト化され、これらが規制対象すなわち測定対象になっていました（ネガティブリスト）。他方、ポジティブリスト制では、「基準値以下であれば残留を許容されるもの」がリスト化され（ポジティブリスト）、これ以外は原則残留禁止になります。したがって、リスト外の化合物も測定する必要が生じます。ただし、残留「ゼロ」規制ではヒトの健康に影響の無いレベルの残留でも流通禁止になってしまいますので、従前には基準値が設定されていないなどの農薬には、ヒトの健康を損なうおそれのない量として 0.01ppm を一律基準に設定して規制することとしています。このような事情から、ポジティブリスト制施行にともない規制項目が大きく増加しました。現在基準値が設定されている 600 項目のうち 400 程度が GC/MS での測定が可能とされており、一斉分析へのニーズがより高くなったと言えます。

Fig.2 の上は約 300 成分（ピーク）の各 200ppb 標準溶液を TIM モードにより一斉分析して得られた TIC ですが、これだけピーク数が多くなるとあまり標準溶液のクロマトグラムのように見えません。また、ピーク間の保持時間に間が空く部分が少なく、全成分に対して SIM を設定するためには、モニターイオン切り替えの困難さが予想されます。一方、上記一律基準の 0.01ppm を担保するためには（通常試料は前処理により 2 倍濃縮されますので）溶液として 0.02ppm を検出する必要がありますが、測定対象の中には感度に乏しく TIM ではこの濃度の検出が困難なものがあります。そこで、本測定では SIM/SCAN 同時取り込みモードを利用し、TIM では感度的に 0.02ppm の検出が厳しいものだけに SIM を設定して同時取り込みを行い、約 300 成分について一律基準値の検出を担保しつつ同時測定を可能としています。Fig.2 の下は感度が取りにくい約 100 成分の SIM クロマトグラムを示しています。

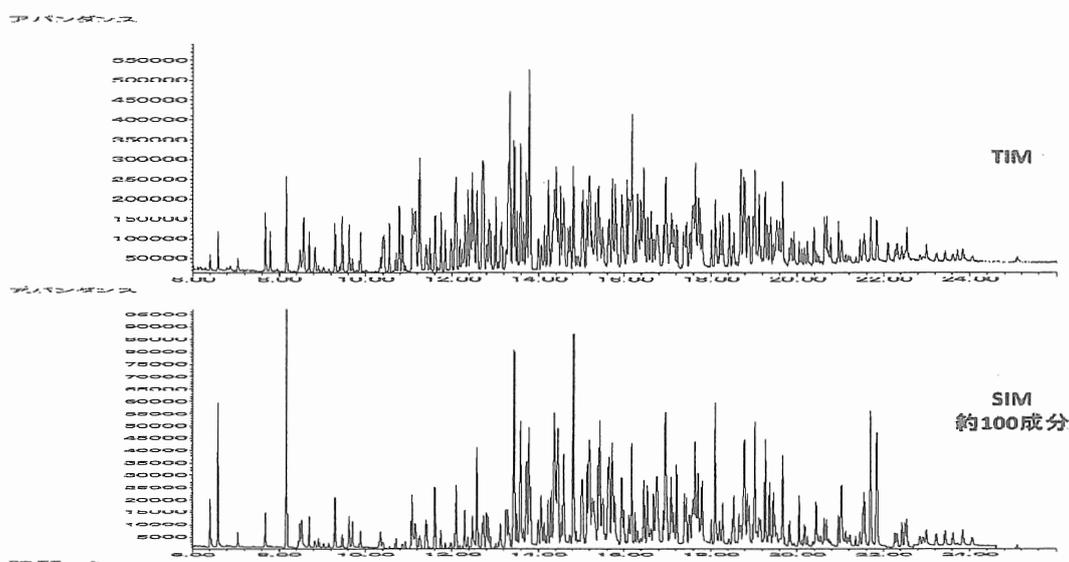


Fig. 2 SIM/SCAN同時取り込みによる約300成分のクロマトグラム

データベース法と大容量注入 (LVI)

筆者らは、農薬について保持時間と MS シグナル強度 (内標準との相対値) を固定化して、標準品を使わなくても検出とおおよその定量を可能とする GC/MS 用データベースを構築しました。本手法は TIM モードでその長が發揮されますが、本モードでは前項で述べたようにポジティブリスト制の一律基準値の担保が難しい化合物が存在します。そこで、この点の改善を意図して LVI との組み合わせを検討しました。この検討に際しては、装置への負担を軽減する目的で試料を 2 倍希釈としましたので、0.01ppm を担保するためには標準溶液として 0.005ppm が検出できることが必要です。Fig.3 はスプリットレス法では 0.01ppm の検出が困難であった化合物の改善例です。上がスプリットレス法 (0.02ppm)、下が LVI (0.005ppm) になっています。

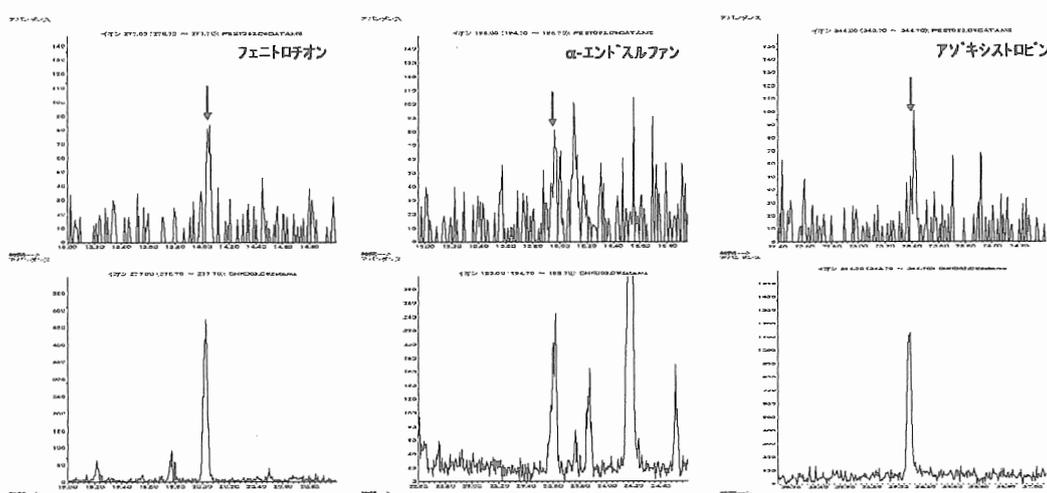


Fig. 3 スプリットレス法(上)とLVI(下)の比較(いずれも試料0.01ppm相当)

さいごに

GC は農薬分析の当初より深くかかわってきました。むしろ、分析法開発に際しては「まずは GC 法による測定」を念頭に置いて検討されていたように思います。このため、ときには「かなり無理をした GC 分析」も見受けられたように記憶しています。これは、もう一つの分離技術である HPLC のこの分野への普及が、GC にやや遅れたことも関係しているのかもしれませんが、その HPLC は、分離能力ではキャピラリ GC に一步譲るもののそれを補ってあまりある選択能力を備えた LC/MS/MS として、現在では GC/MS(MS) とともに農薬分析の両輪をなしている観があります。この先、この両技術を凌駕するような農薬分析手法が開発される見込みは、少なくとも現時点ではかなり低いように見えます。今後、両技術も高感度化あるいは高速化が進み、それぞれの得手・不得手の測定対象成分が分化していくものと期待されます。控えめに見ても、いましばらくは GC が農薬分析の一翼を担っていくのではないのでしょうか。

GC/Q-TOF が支える安全・安心な生活（危険ドラッグの定性を通じて）

アジレント・テクノロジー(株) 小笠原 亮

1. はじめに

四重極型を筆頭にトリプル四重極型、二重収束磁場型、イオントラップ型、飛行時間（TOF）型など様々なタイプの GC/MS がその機能や特徴に合わせて食品、環境、法医学、エネルギー、化学などの分野で我々の産業や生活を支えている。そんな中で四重極-飛行時間型 GC/MS（GC/Q-TOF）は 2011 年に初めて Agilent からキャピラリ GC 専用の製品が市販された後発の GC/MS であり、TOF モードと Q-TOF モードが使用できる。また、イオン化法は Electron ionization（EI）、Positive ion chemical ionization（PICI）、Negative ion chemical ionization から選択可能である。

GC/Q-TOF の特徴は、汎用性が高く既存のマススペクトルライブラリを利用できる EI/TOF モードから、ソフトイオン化である PICI との組み合わせにより分子組成の決定が可能な PICI/TOF モード、構造推定に役立つ EI/Q-TOF モード、PICI/Q-TOF モードなどマルチな手法でピークの定性情報を得られる点にある。

本講演では GC/Q-TOF を用いた分析の一例として、近年大きな社会問題になっている危険ドラッグ中の指定薬物の検出および同定方法を紹介する。

2. 危険ドラッグ

薬事法で規定される指定薬物を含有するドラッグで、合法ドラッグ→脱法ドラッグ→違法ドラッグなどの呼称の変遷を経て現在は危険ドラッグと呼ばれている。指定薬物は大麻の主要成分である Tetrahydrocannabinol（THC）とよく似た基本骨格を持つ合成カンナビノイド系 770 物質（包括指定）や、覚せい剤の主要成分とよく似た基本骨格を持つカチノン系 495 物質（包括指定）の他、個別指定薬物を含めて 1400 物質以上にのぼり、その数は毎月のように増え続けている。

指定薬物分析を困難にしているのはこれらの物質の標準品の入手が容易でなく、購入できるものは限られることや、合成するには数が多いことである。また、マススペクトルがライブラリ登録された物質も一部にとどまる。

3. EPIC 理論に基づいた精密質量プロダクトイオンスペクトルによる指定薬物の同定

指定薬物の検出・同定を行うには、マススペクトルライブラリなど利用できる情報を最大限利用しつつ、ライブラリ登録の無い多くの物質についても得られたデータからその分子組成や分子構造を明らかにできる、あるいはある程度物質の候補を絞り込めるような手法が求められる。その一つが Elucidation of Product Ion Connectivity（EPIC）理論に基づいた手法である（Hill et al. 2005）。この理論では得られた精密質量プロダクトイオンスペクトルと化合物の構造式（Mol ファイル）の相関を調べ、矛盾の大きさによってペナルティが課せられる。開裂する結合の種類や数、質量の理論値との誤差の程度などが考慮され、ペナルティのより小さい構造が真の構造に近いと考えられる。構造式さえ描けばマススペクトルライブラリへの登録がなくても評価可能な点がこの手法の利点である。

AgilentにはEPIC理論に基づいて構造をスコアで評価するソフトウェアとしてMolecular Structure Correlator (MSC)があり、プロダクトイオンスペクトルと構造式の相関が高いほど高いスコアが与えられる。プロダクトイオンスペクトルを得るためのプリカーサイオンとしては $[M+H]^+$ または M^+ が使用できる。また、すべての指定薬物を含む1700以上の薬物の名称、分子式および構造式を登録したデータベース“Agilent危険ドラッグ Personal Compound Database (PCD)”(仮称)があり、得られた精密質量プロダクトイオンスペクトルに指定薬物の可能性があるか否か、また指定薬物の場合にどの物質の構造との相関が高いかを瞬時に判定することが可能である。

4. GC/Q-TOFによる効率的な危険ドラッグ分析の流れ

以上をふまえて考えられるGC/Q-TOFによる効率的な危険ドラッグ分析の手順を以下に述べる。

① EI/TOFモードでの測定

- 危険ドラッグマススペクトルライブラリによる検索でヒットの有無を確認
- すべての指定薬物について、構造から推定されるフラグメントイオンで精密質量抽出イオンクロマトグラムを描かせ(3~4程度)、全く同じRTに該当するピークがすべて現れる物質の有無を確認
- 該当ピークが存在した場合には②へ

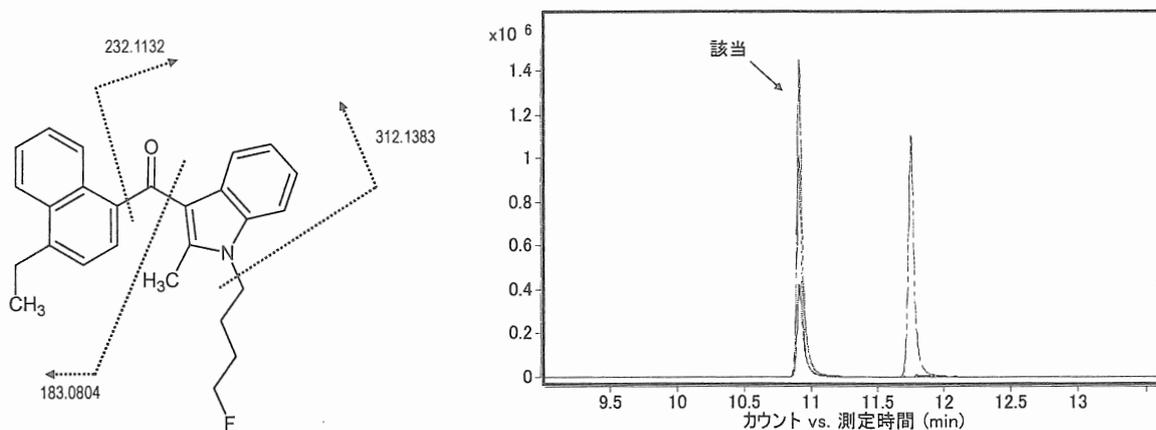


図1. ある指定薬物について予想される主要なフラグメントイオンとその精密質量抽出イオンクロマトグラム

② PICI/TOF モードでの測定

- ①で指定薬物である可能性が示されたピークについて、分子量関連イオンからその分子組成を確認
- 確認した分子組成が当該物質と一致した場合には③へ

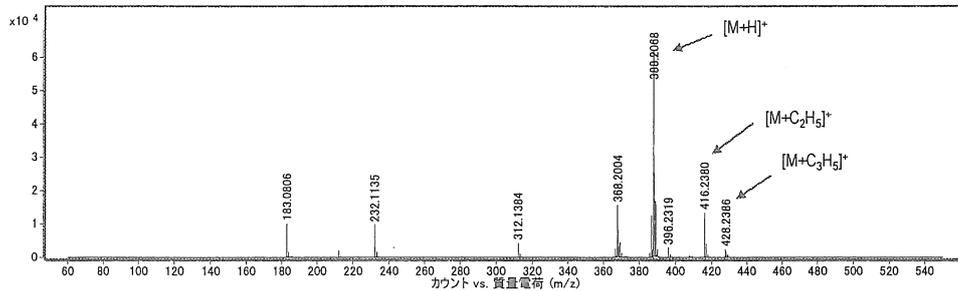


図 2. ある指定薬物のメタン PICI マスペクトルとアサインされた分子量関連イオン

ベスト	式	質量 (MFG)	スコア	DRE
1	C ₂₆ H ₂₆ FNO	387.1996	99.46	14

1番目の候補 C₂₆H₂₆FNO

イオン種	m/z	イオン式	スコア (MS)	スコア (質量)	スコア (同位体, 平衡)	スコア (同位体, 質量差)
[M+H] ⁺	388.2068	C ₂₆ H ₂₇ FNO	99.46	99.51	99.03	99.88

m/z	Calc	Found	偏差 (%)	Delta (Da)	Off (ppm)
388.2068	388.2071	100	100	0.3	0.83
389.2102	389.2104	28.8	27.5	0.2	0.45
390.2136	390.2136	4.2	3.8	0.1	0.13
391.2174	391.2167	0.4	0.4	3.3	8.46

ベスト	式	質量 (MFG)	スコア	DRE
2	C ₂₉ H ₂₅ N	387.1967	95.08	18
3	C ₂₈ H ₂₉ NO	395.2249	92.85	15
4	C ₂₅ H ₃₀ F ₂ N ₂ O ₂	395.2261	87.47	11
5	C ₂₀ H ₃₀ F ₂ N ₃ O ₄	395.222	72.06	7

図 3. ある指定薬物の [M+H]⁺ から計算された分子組成

③ PICI/Q-TOF モードまたは EI/Q-TOF モードでの測定

- [M+H]⁺ または M⁺ の精密質量プロダクトイオンスペクトルを取得
- MSC を使い、すべての指定薬物の構造式を登録したデータベース (Agilent 危険ドラッグ PCD) から関連の高い構造を検索

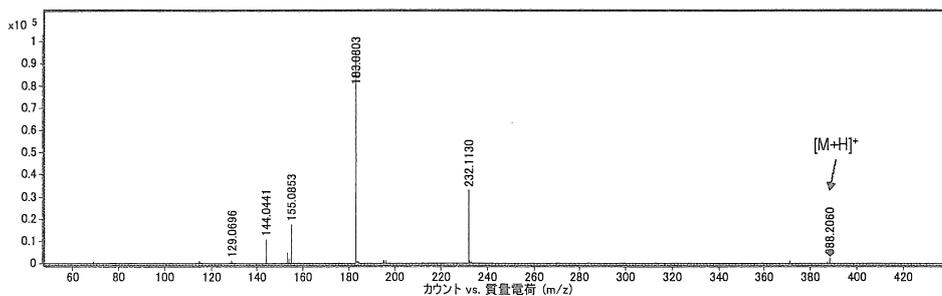


図 4. ある指定薬物のメタン PICI 精密質量プロダクトイオンスペクトル

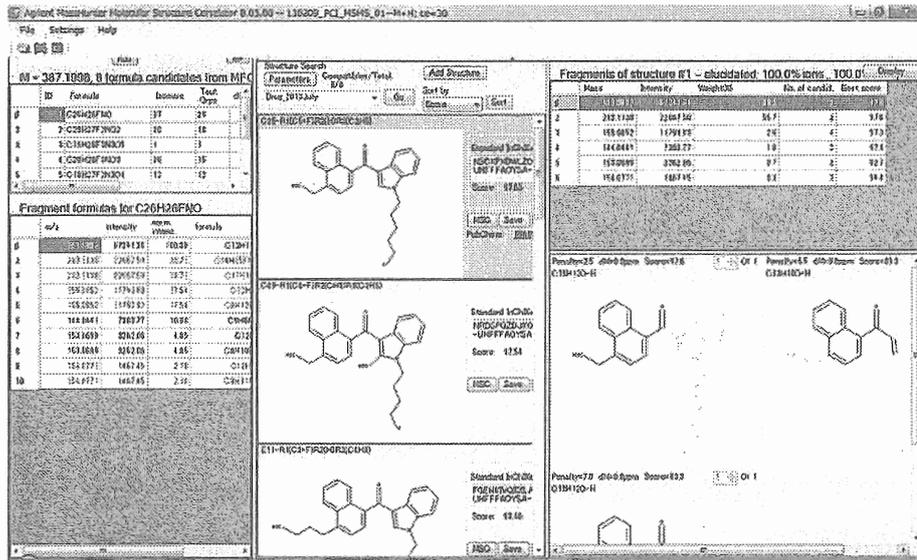


図 5. 図 4 のプロダクトイオンスペクトルから MSC でヒットした構造式 (データベースとして Agilent 危険ドラッグ PCD を使用)

5. まとめ

GC/Q-TOF と構造相関ソフトウェア MSC そして Agilent 危険ドラッグ PCD により、たとえ標準品やマススペクトルライブラリ登録が無くても検出されたピークが指定薬物の可能性が高いか否かを高いレベルで判定できることを示した。類似の組成・構造を持つ物質が次々と出現しそれを追いかけるように法規制がなされていく危険ドラッグの現状において、本手法は効率的で利用価値の高い定性法の一つであると考えられる。

引用文献

Alastair W. Hill and Russell J. Mortishire-Smith (2005) Automated assignment of high-resolution collisionally activated dissociation mass spectra using a systematic bond disconnection approach. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 3111-3118

QuEChERS 法（クエッチャーズ法）を用いた GC による食品中の残留農薬の分析

Restek Corporation 北見 秀明（きたみ ひであき）

1. はじめに

平成 15 年（2003 年）の食品衛生法改正に基づき、食品中に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品（農薬等）について、一定量を超えて農薬等が残留する食品の販売等を原則禁止するという新しい制度（ポジティブリスト制度）が平成 18 年（2006 年）5 月 29 日から施行された。これにより、食品衛生法で残留基準が設定されていた農薬 283 品目から 799 品目が残留基準として新たに設定された。それにともない、より迅速で簡便な試料の前処理法及び多成分一斉分析法が求められるようになってきた。そのような中、2003 年に Anastassiades らによって発表された試料の前処理法は、Quick（迅速）、Easy（簡単）、Cheap（安価）、Effective（効率的）、Rugged（高い耐久性）、Safe（安全）の頭文字より QuEChERS 法（クエッチャーズ法）又は“catchers”にもじってキャッチャーズ法と命名された²⁾。この試料の前処理法は、海外では AOAC 法³⁾、EU 法⁴⁾の公定分析法として認められており、使用器具が少なくコンパクトで、使用溶媒量も少なく濃縮操作を必要としないことから、短時間で多くの検体を処理することが可能であり、この海外の公定分析法の改良法も含め、野菜や果物等で使用例が数多く報告されている⁵⁾⁷⁾。そこで、この QuEChERS 法による試料の前処理から GC による多成分一斉分析について簡単に紹介する。

2. QuEChERS 法

図 1 に QuEChERS 法の代表的なフローを示す。また図 2 に QuEChERS 法のフローの概略とその利点を示す。

オリジナル (2003年)	EU法 (EN 15662) (2008年)	AOAC法 (2007年)
試料 10 g ↓ ACN : 10 mL ↓ 振とう 1分 無水硫酸 Mg : 4 g 塩化 Na : 1 g ↓ 振とう 1分 ISTD : 50 µL 添加 ↓ 振とう 30秒 ↓ 遠心分離 5分 固相抽出 (分散式)	試料 10 g ↓ ACN : 10 mL ISTD : 100 µL 添加 ↓ 振とう 1分 無水硫酸 Mg : 4 g 塩化 Na : 1 g クエン酸 3Na : 1 g クエン酸 2Na : 0.5 g ↓ 振とう 1分 ↓ 遠心分離 5分 固相抽出 (分散式)	試料 15 g ↓ 1%酢酸含有 ACN : 15 mL 無水硫酸 Mg : 6 g 無水酢酸 Na : 1.5 g ISTD 75 µL 添加 ↓ 振とう 1分 ↓ 遠心分離 1分 固相抽出 (分散式)

図 1 QuEChERS 法の代表的なフロー

ACN : アセトニトリル ; ISTD : 内部標準物質

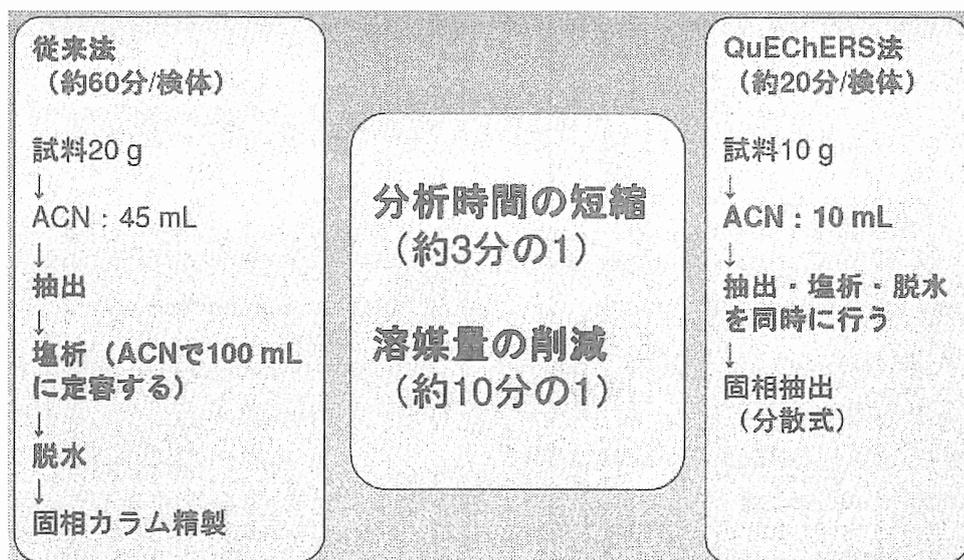


図2 QuEChERS法のフローの概略とその利点

ACN : アセトニトリル

図1から分かるように、2003年に発表された方法では緩衝剤（バッファー）を用いていないが、さらに公定分析法では改良され、バッファーを用いるようになり、pHによって性質が変わる化合物（農薬）や酸や塩基によって変性しやすい化合物（農薬）を効率的に抽

	AOAC法	EU法 (EN 15662)
一般的な野菜・果物 セロリ, レタス, キュウリ, メロン	Q-sep Q250 2 mL, 100-pk. Q-sep Q350 15 mL, 50-pk.	Q-sep Q210 2 mL, 100-pk. Q-sep Q370 15 mL, 50-pk.
脂質・ろう質を含む 野菜・果物 アボガド, ナッツ, 種, 乳製品, シリアル	Q-sep Q251 2 mL, 100-pk. Q-sep Q351 15 mL, 50-pk.	
色素を含む野菜・果物 イチゴ, サツマイモ, トマト	Q-sep Q352 15 mL, 50-pk.	Q-sep Q212 2 mL, 100-pk. Q-sep Q371 15 mL, 50-pk.
色素を多く含む野菜・果物 赤トウガラシ, ホウレンソウ, ブルーベリー	Q-sep Q252 2 mL, 100-pk.	Q-sep Q213 2 mL, 100-pk. Q-sep Q372 15 mL, 50-pk.

図3 QuEChERS法の選択 (RESTEK Q-sep)

出できるようになった。また図2から分かるように、従来法では1検体あたり約60分かかるところをQuEChERS法では抽出・塩析・脱水を同時に行うことにより、1検体あたり約

20分ですむ。よって QuEChERS 法の分析時間は、従来法と比較して約3分の1で行うことができる。また従来法では、抽出溶媒であるアセトニトリルの量を1検体あたり約100 mL必要とするが、QuEChERS 法では1検体あたり10 mLですむ。よって QuEChERS 法の使用溶媒量は、従来法と比較して約10分の1で行うことができる。

この QuEChERS 法について、試薬等を秤量しないですむキットが各社で販売されている。その例 (RESTEK Q-sep) を図3に示す。これらのキットを用いると、検査の前準備において時間を削減できるため、より効率的となる。

3. 前処理後の GC のクロマトグラム例

図4に、サツマイモを QuEChERS 法 (EU 法) で前処理した後に GC-TOFMS によりエンドスルファンを分析したときの例を示す。このエンドスルファンは化審法の第一種特定化学物質に指定されている。この図で A はクリーンアップをせずに、脂肪酸であるパルミ

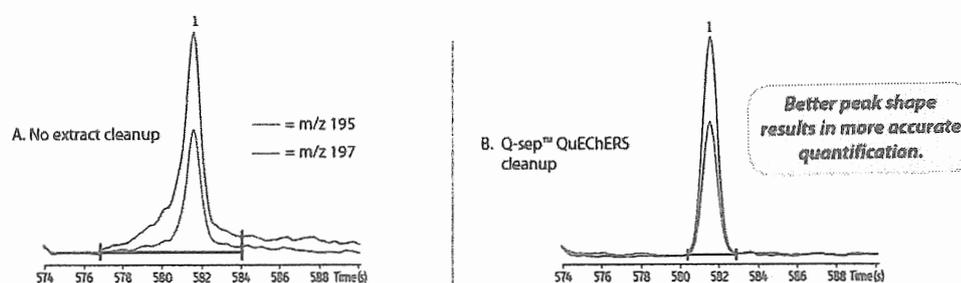


図4 GC-TOFMS によるエンドスルファンの分析例

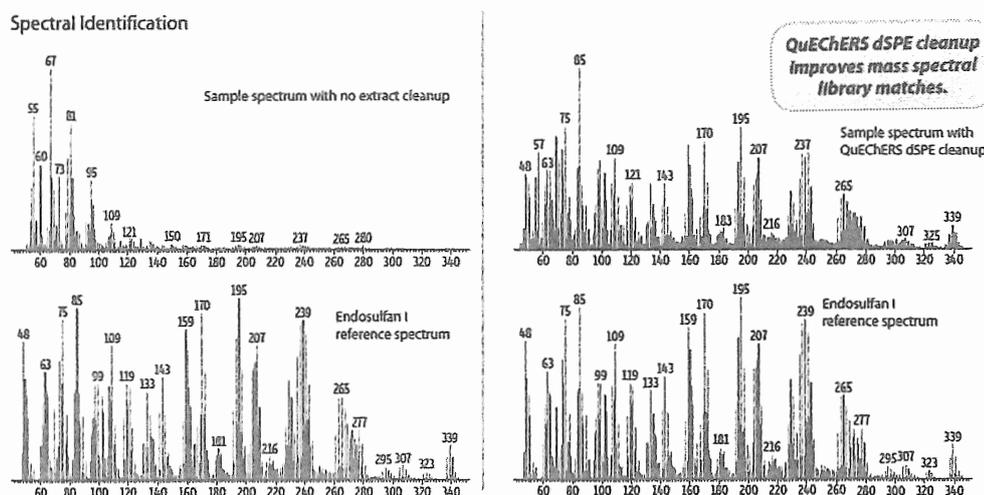


図5 エンドスルファンのマススペクトル

チン酸による妨害をうけた状態で、B は QuEChERS 法によりクリーンアップしたときのマスプロトグラムである。この図から明らかなように、B がよりピーク形状が良いことが分かる。また図5に図4のときのエンドスルファンのマススペクトルの比較を示す。下段の

エンドスルファンの標準品のマススペクトルと、それぞれ上段の試料を分析したときのマススペクトルを比較すると、クリーンアップしたとき（向かって右側）のマススペクトルがより標準品のマススペクトルと類似していることが分かる。これらの図から分かるように、エンドスルファンに関しては、QuEChERS法は同定及び定量に優れた結果の期待ができる。ここで、定量評価における添加回収率の具体例については、各種の参考文献を参照していただきたい⁵⁾⁷⁾。

4. おわりに

この QuEChERS 法は、現在も改良法があらゆる研究機関等で検討されている。その検討結果の例として、酢酸エチル不溶物を除去するといった濃縮後の溶媒置換（転溶）などがないために、試験溶液中に夾雑物が多く残存しやすく、試料によっては GC の装置の汚染などが予想以上に進むことが分かったとのことである⁷⁾。この QuEChERS 法は、従来法と比較して、より迅速になるとはいえ、分析精度においては、まだ問題点があるようである。しかしながら、ポジティブリスト制度という背景がある以上、農薬の検査に迅速性は求められる。つまり現状において QuEChERS 法は、ふるい分け検査（スクリーニング検査）において、かなり有用であると考えられる。よって QuEChERS 法がさらに改良されて、より迅速かつ高精度な試料の前処理法となることが今後期待される。

参考文献

- 1) 厚生労働省：“食品に残留する農薬等に関する新しい制度（ポジティブリスト制度）について”，
<<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/zanryu2/dl/060516-1.pdf>>,
(accessed 2014-10-21).
- 2) M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajinbاهر, F. K. Schenck: *J. AOAC International*, 86(2), 421-431 (2003).
- 3) AOAC Official Method 2007.01: Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate, (2007).
- 4) European standard EN 15662: Foods of Plant Origin-Determination of Pesticide Residues Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method (2008).
- 5) C. Diez, W. A. Traag, P. Zonner, P. Marinero, J. Atienza: *J. Chromatogr A*, 1131, 11-23 (2006).
- 6) M. Okihashi, Y. Kitagawa, KI Akutsu, H. Obata, Y. Tanaka: *J. Pest. Sci.*, 30(4), 368-377 (2005).
- 7) 上野英二, 梶島由佳, 大島晴美, 大野勉：食品衛生学雑誌, 49 (4), 316-319 (2008).

主題講演 2：豊かな生活を支えるガスクロマトグラフィー

〔招待講演 2〕

清酒の品質と香気成分

((独)酒類総合研究所) 磯谷敦子

〔主題講演 2〕

ビールに特徴的な香りを付与するホップ由来香気成分の解析

(アサヒビール(株)酒類技術研究所) 岸本 徹

〔技術講演 2〕

ダイナミックヘッドスペースを用いた Multi-volatile Method (MVM)による飲料中香気成分の網羅的分析

(ゲステル(株)) 角川 淳

GC/MS による食品分析手法のご紹介！ 産地特定編

(LECO ジャパン合同会社) 西村 泰央

スローフードとその網羅的分析法

(ジューエルサイエンス(株)) 宮川浩美

清酒の品質と香気成分

独立行政法人酒類総合研究所 品質・安全性研究部門 磯谷敦子（いそがいあつこ）

清酒の香りはワインやビールに比べると地味なイメージがあるかもしれないが、最近では、華やかな果実様の香りの吟醸酒や、キャラメル様の重厚な香りの熟成酒など、多様な個性をもった製品が市場に見られるようになってきている。清酒の官能特性を客観的に評価する分析形官能評価のための用語として、清酒中に個々に確認することのできる香味を表す86の用語が定義されている(図1)。一方、ガスクロ装置の発達によって微量成分の検出・定量が可能になり、図1に示す官能特性の多くが成分で説明できるようになってきている。官能特性と成分を対応付けることは、その特性を制御するための重要な第一歩である。本講演では、清酒の熟成/劣化、およびカビ臭を中心に、関与する成分とその生成メカニズムについて紹介したい。

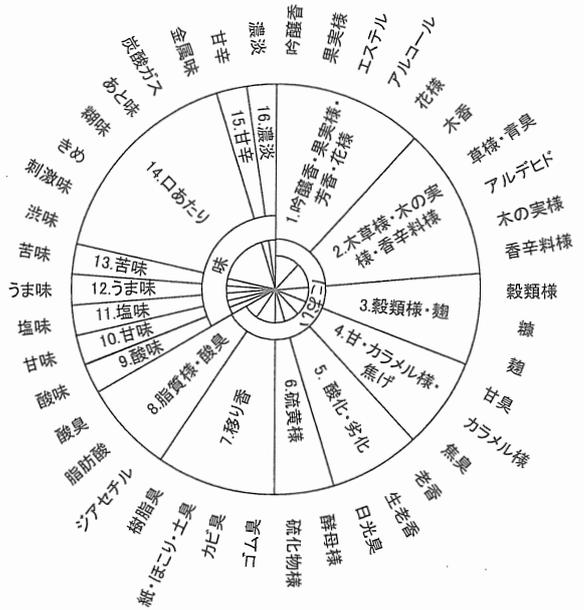


図1 清酒のフレーバーホイール
清酒の品質評価用語体系の第1層までの用語を車輪状にまとめたもの

1. 清酒の熟成に関与する成分

清酒の香りは、新酒では果実様の香りや麴由来の香りを主体としたフレッシュな印象であるが、時間が経つと焦げ、キャラメル、しょうゆなどと表現される複雑で重厚なものへと変化する。清酒の貯蔵による成分変化に関する研究は長い歴史があり、香気成分についても、揮発酸、硫黄化合物、エステル、フェノール化合物等、貯蔵により増加する多数の成分が報告されている。中でも、焦げ臭を呈する成分として同定されたソトロンは、古酒（貯蔵した清酒）の濃度が閾値を大きく上回り、古酒の香りに大きく寄与することが明らかにされていた²⁾。一方、その他の成分については、定性分析にとどまっていたり清酒中の閾値が不明であるなど、香りへの寄与が明らかでないものも多かった。

(1) 古酒の香りに寄与する成分

演者らのグループは、まず GC-Olfactometry により古酒のにおい成分のスクリーニングを行った。AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) 等により新酒と古酒の比較を行ったところ、ソトロン、フルフラール、アルデヒド類といったカルボニル化合物、有機酸や脂肪酸のエチルエステル、ジメチルジスルフィド (DMDS) やジメチルトリスルフィド (DMTS) といったポリスルフィドが、古酒で特に強く検出された。次に、これらの成分（熟成香成分）について、GC-MS により古酒（貯蔵期間 0~35 年）の定量分析を行った。定量結果と閾値¹⁾との関係を調べたところ、ソトロンのほかナッツ様の香りのイソバレルアルデヒドやたくあん漬け様の DMTS の濃度が閾値を大きく上回ることが明らかとなり、これらの成分の古酒の香りへの寄与が示唆された³⁾。

(2) 「老香」？「熟成香」？

清酒の貯蔵により劣化したと感じられる香りを専門家は「老香（ひねか）」とよぶ。一方、清酒の一つのカテゴリとして、数年～数十年の間製造場で熟成させた長期熟成酒がある。長期熟成酒の場合、その香りは「熟成香」とよばれ、老香とは区別されることが多い。「老香」と「熟成香」は違うのだろうか？そこで、一般の清酒で専門家に老香を指摘されたもの（老香清酒）と、貯蔵期間5年以上の長期熟成酒について、前述の熟成香成分の濃度を調べた。その結果、老香清酒はDMDSやDMTSといったポリスルフィドが多い傾向がみられた。一方、長期熟成酒は熟成香成分全体が多いが、特に貯蔵期間が長いものではソトロンをはじめとするカルボニル化合物やコハク酸ジエチルが相対的に多い傾向がみられた（図2）。このうち、DMTSおよびソトロンは閾値を超える濃度で含まれることから、それぞれ「老香」および「熟成香」を特徴付ける主要成分であると考えられた⁴⁾。

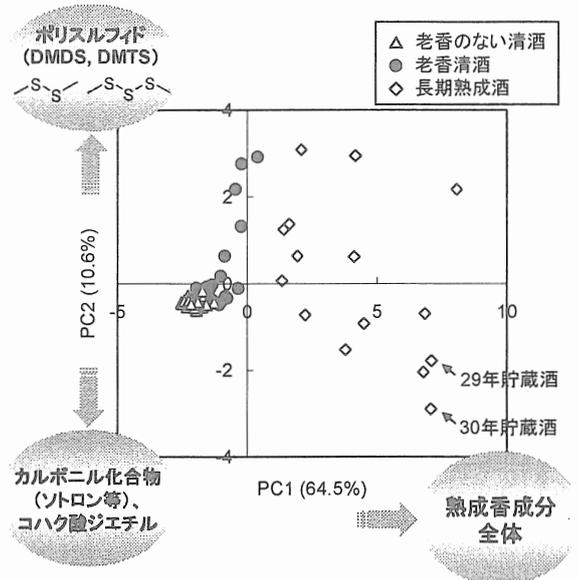


図2 熟成香成分による主成分スコアプロット

(3) DMTS 前駆物質とその生成に関わる酵母遺伝子

劣化臭としての「老香」を制御するにはDMTSをターゲットにすればよいことがわかったが、清酒中のDMTSの生成機構は不明だった。そこでまず、清酒からDMTS前駆物質の探索を行った。方法としては、液体クロマトグラフィーを用いて清酒成分を分画し、フラクションの強制劣化によって生じるDMTS生成量（DMTS生成ポテンシャル）を指標として前駆物質をしぼり込んだ。精製した前駆物質（DMTS-P1と命名）の構造解析の結果、1,2-dihydroxy-5-(methylsulfinyl)pentan-3-oneと同定された⁵⁾（図3）。では、DMTS-P1はどこからくるのか？DMTS-P1は清酒の発酵中に増加し、また、その化学構造がメチオニン再生経路の代謝中間体と似ていることから（図3）、この経路との関連が推察された。そこで、酵母のメチオニン再生経路遺伝子破壊株を用いて清酒醸造試験を行った。その結果、*MRI1*もしくは*MDE1*遺伝子破壊株において、DMTS-P1濃度、DMTS生成ポテンシャルともに親株に比べて大きく減少した（図4）。したがって、これらの遺伝子はDMTSを制御するためのターゲットになると考えられた⁶⁾。現在、これらの遺伝子に変異した清酒酵母を産業利用可能な方法で取得することを試みている。

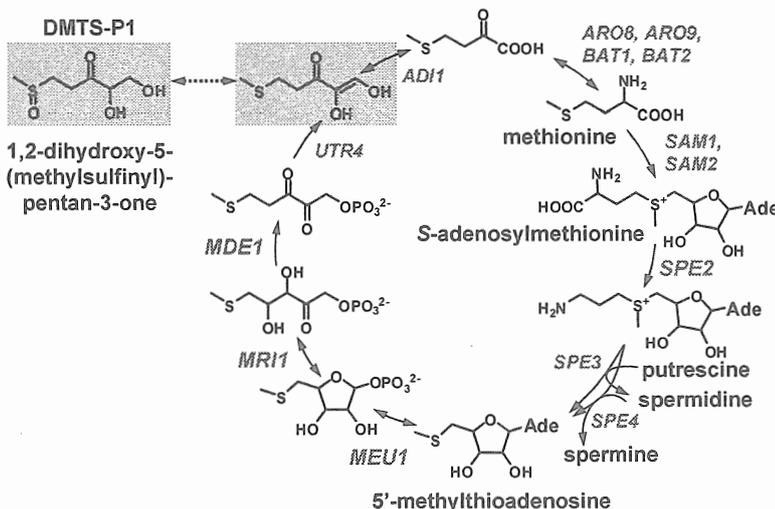


図3 DMTS 前駆物質（DMTS-P1）と酵母のメチオニン再生経路

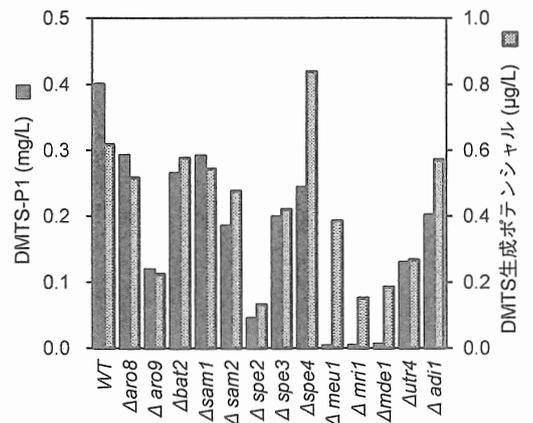


図4 メチオニン再生経路遺伝子破壊株による清酒醸造試験結果

2. 清酒のカビ臭

カビ臭は移り香の一つで、清酒だけでなくさまざまな食品で問題となるオフフレーバーである⁷⁾。ワインでは、コルクが原因であるケースが多いため、コルク臭ともよばれる。カビ臭の主要原因物質である2,4,6-トリクロロアニソール (TCA) は、ごく微量でにおいが感じられる強力なにおい物質である。TCA は、2,4,6-トリクロロフェノール (TCP) をカビがメチル化することによって生成することが明らかにされている。TCP は、木材の防カビ剤として使用されており、また、木材中のリグニンが塩素系殺菌剤によって分解、塩素化されて生じる場合もある (図5)。清酒では、吟醸酒や純米酒等の高級酒でカビ臭が発生することが多く、品質を大きく損なうことが問題となっている。

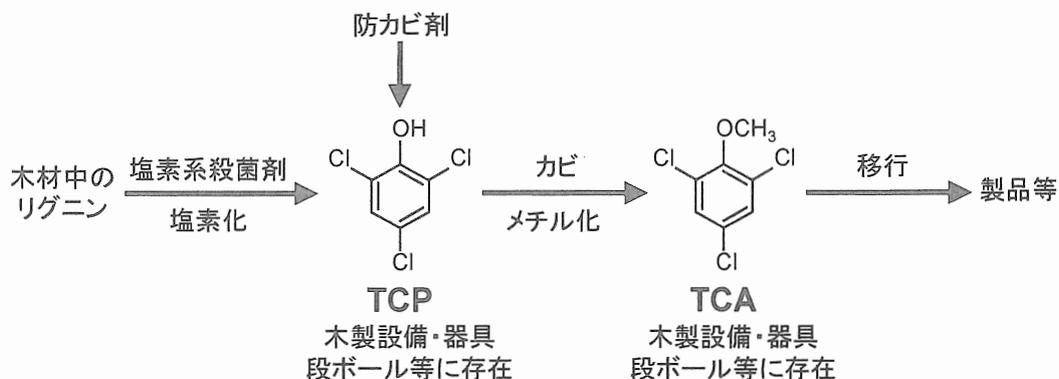


図5 TCAの汚染経路

(1) 清酒のカビ臭の分析と原因物質の推定

全国新酒鑑評会の出品酒約 1000 点のうち、審査員からカビ臭の指摘を受けた酒 17 点について、SBSE(Stir Bar Sorptive Extraction)-GC-MS により TCA の分析を行った。その結果、12 点において TCA 濃度が清酒の認知閾値 (1.7 ng/L) 以上だった。次に、官能評価によるカビ臭強度と TCA 濃度との関係を調べると、正の相関がみられた。これらの結果により、TCA が清酒のカビ臭の主要原因物質であると推定された⁸⁾。なお、その後の鑑評会出品酒の調査で、2,4,6-トリブロモアニソール (TBA) が原因と推定されるカビ臭指摘酒もみついている⁹⁾。

(2) 清酒のカビ臭の汚染経路

一般的な TCA の汚染経路は、木製パレットなどの木製品や、段ボール、紙袋等の包装資材からの汚染である。清酒の場合でも、高濃度の TCA が検出された木製パレット (TCA 800 ng/g) の上に清酒の入った容器 (ポリエチレンラップとアルミホイルで覆った状態のもの) を置いたところ、4 日で閾値を超える濃度の TCA が検出された。また、木製の櫂棒や固液分離用の袋からも TCA の検出例があり、さまざまな汚染経路が考えられる。

一方、清酒醸造では麴菌というカビを使用する。清酒中から閾値を超える濃度の TCA が検出された製造場で、麴の製造工程でサンプリングを行い、TCA、TCP、および麴菌体量を測定した。その結果、麴菌体量の増加とともに TCA が増加した (図6)。また、さまざまな種類の麴菌を用いて TCP から TCA への変換能を調べたところ、すべての菌が TCP を TCA に変換した。こ

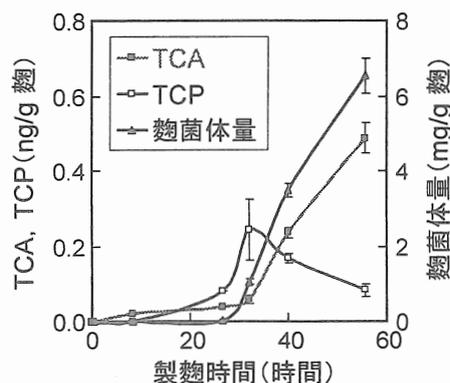


図6 製麴工程での TCA、TCP、麴菌体量の変化

のことから、清酒醸造においては麴もカビ臭汚染の原因になることが明らかとなった⁸⁾。

(3) カビ臭の生成に関与する麴菌のメチル基転移酵素遺伝子の探索

ワインにおいては、コルク栓に生えるカビの一種、*Trichoderma longibrachiatum* から、TCP を TCA に変換するクロロフェノール *O*-メチルトランスフェラーゼが見つかっているが、麴菌においては変換に関与する酵素は特定されていなかった。そこで、TCP のメチル化に関与する麴菌の酵素遺伝子の探索を行った。まず麴菌 *Aspergillus oryzae* のゲノムデータベースより候補遺伝子を抽出し、それらの遺伝子破壊株を構築した。34 の破壊株について TCP から TCA への変換能を調べた結果、一つの破壊株において TCA の生成が特に少なく、対照株の 12% だった。したがって、この遺伝子 (A0080521000231) が麴菌において TCP から TCA への変換に関与する主要な *O*-メチルトランスフェラーゼをコードしていると考えられた¹⁰⁾。今後は、A0080521000231 によりコードされる *O*-メチルトランスフェラーゼを生産しない実用麴菌の育種が期待される。

文献

- 1) 宇都宮仁ほか, 酒類総合研究所報告, **178**, 45-52 (2006)
- 2) 高橋康次郎, 醸協, **75**, 463-468 (1980)
- 3) Isogai, A. *et al*, *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 4118-4123 (2005)
- 4) 磯谷敦子ほか, 醸協, **101**, 125-131 (2006)
- 5) Isogai, A. *et al*, *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 189-195 (2009)
- 6) Wakabayashi, K. *et al*, *J. Biosci. Bioeng.*, **116**, 475-479 (2013)
- 7) 西島基弘ほか, 食品に関わるカビ臭 (TCA) その原因と対策, p2, 食品産業センター／日本国際生命科学協会 (2004)
- 8) Miki, A. *et al*, *J. Biosci. Bioeng.*, **100**, 178-183 (2005)
- 9) 岩田博ほか, 醸協, **104**, 777-786 (2009)
- 10) 遠藤路子ほか, 醸協, **106**, 556-561 (2011)

ビールに特徴的な香りを付与するホップ由来香気成分の解析

アサヒビール（株）酒類技術研究所 きしもととおる 岸本 徹

【はじめに】

ホップはビールに特有の苦味と香りを付与するために用いられる。ホップがその毬花中に苦味の元となる樹脂成分や、香りの元となる精油成分を含んでいることはよく知られている。しかし毬花中の精油成分はビールまでほとんど移行せず、またその多様性のために、ビール中でホップ香気を構成する成分については十分に明らかにされていなかった。我々の研究では、ビール中の特徴的なホップ香気に寄与する成分を解析し、それをコントロールする方法について検討している。ここではこれまでに得られた知見について紹介する。

【ビールに移行するホップ由来香気成分の解析】

ビール醸造工程である仕込み、発酵、ろ過を経てビールにまで移行し、ビール中でホップ香気を構成する成分を明らかにすることを試みた。過剰にホップ香を付与したビールと無ホップビールを官能評価およびGC匂い嗅ぎ分析法（GC-0）によって比較した。その結果、ホップ由来とされる香気成分を総計27種見出し、そのうち19成分を同定した。これらはエステル、テルペン、ケトン、チオール、アルデヒド、アルコールであった。閾値、濃度、GC-0で検出される強度、香調から、それぞれの官能への寄与について調べた。

【ホップ由来チオール類の解析】

上記の試験結果から、チオール類の4-mercapto-4-methylpentan-2-one (4MMP)、3-mercaptohexan-1-ol (3MH)が、ビールのマスカット様のホップ香気に寄与していることを見出し、それぞれの閾値を調査したところ1.5 ng/L, 55.0 ng/L, であった。ホップ品種毎の濃度を測定した。4MMPはヨーロッパ産以外のホップに含有されることがわかった。またヨーロッパ産のホップからは銅イオンが高い濃度で検出された。ヨーロッパにおいてはベト病防止のために硫酸銅（ボルドー液）が散布されており、4MMPは銅イオンと結合し、この4MMP由来の香気を消失していると考えられた。

3MHの一部は発酵中に、3-mercaptohexyl acetate (3MHA)に変換されていた。3MHAは3MHよりも低い閾値(5.0 ng/L)をもつことから、その変換能が高い酵母種を選択することによって、より強い香りをもつビールを作ることができると考えられる。

【チオールの簡易分析法の確立】

ホップ由来のチオール類の濃度を製造工程において管理していく上で、4MMP などのチオール化合物の分析には多大な労力と分析スキルを要し、多検体のサンプルを一度に分析することはできなかった。また既存の分析法においては水銀化合物を使用するため、そこで発生する廃液の処理も困難であった。

そこで水銀化合物を使用せず、労力を必要としない、ビール中のホップ由来チオール類の定量分析法を確立した。本分析法においては、ethyl propiolate (ETP)による香気の誘導体化反応と Stir Bar Sorptive Extraction 法(SBSE; Gerstel)による誘導体化物の抽出を同時に行い、GC-MS-MS (Agilent 7000B) にて分析する。確立した新規分析法を用いることにより、閾値以下の濃度のホップ由来チオール類を、高い精度で容易に定量することが可能となった。

以上

ダイナミックヘッドスペースを用いた Multi-volatile Method (MVM) による飲料中香気成分の網羅的分析

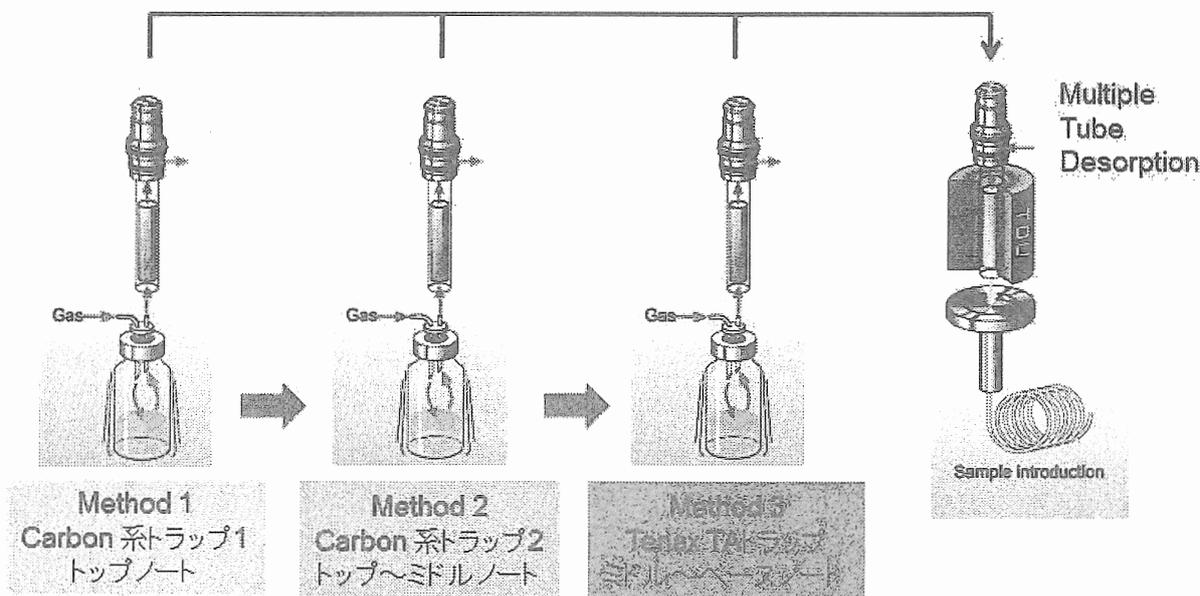
ゲステル株式会社○角川淳(つのかわじゅん)落合伸夫(おちあいのぶお)笹本喜久男(ささもときくお)

GERSTEL GmbH Andreas Hoffmann

1. はじめに

ヘッドスペースガスクロマトグラフィー(HS-GC)は、前処理の簡便さ、省溶媒化、自動化のし易さ、不揮発性成分の導入を抑えられるなどの特徴から、食品や飲料中の香気成分分析に頻繁に用いられている。既に確立された技術として、静的 HS (SHS)、動的 HS (DHS)、HS 固相マイクロ抽出(HS-SPME)などが挙げられる。しかし、これらの技術で得られるクロマトグラムでは、気相に移行し易い「揮発性が高く、疎水性の高い成分」が支配的で、「揮発性が低く、水溶性の高い成分」の回収率が低い傾向がある。そのため、2012年になると、Markelov, Guzowski らによる Full Evaporation Technique (FET)¹⁾を発展させた Full Evaporation DHS (FEDHS)が開発された。FEDHS は、3 軸ロボット型オートサンプラーによる自動 DHS システムにより、水系試料 10~100 μ L 中の幅広い香気成分 ($\log K_{ow}$: -0.31~4.39) の高回収率 (84~103 %) を実現し、化粧品や飲料中の香気成分分析などへ適用されている^{2),3),4)}。しかし FEDHS は GC 分析での水の影響を避けるために、大量のドライパージを行う必要がある(水試料 100 μ L に対してドライパージ 2.6 L 以上)。そのため、揮発性の高い Acetaldehyde, Dimethyl sulfide や furan などは捕集管を破過してしまう懸念がある。そこで、本 DHS システムの特徴に着目し、香気成分をそれぞれの性質に合わせて複数の捕集管に分けて連続的に捕集する、Multi-volatile Method (MVM) を開発した (Fig. 1)⁵⁾。本発表では①MVM における捕集条件の最適化と標準化合物の回収率の検討、②MVM のアプリケーション例として、コーヒー中香気成分の網羅的分析を行った結果について報告する。

Fig. 1 MVM 分析フロー



2. 実験

モデル化合物として Acetaldehyde, Furan, Dimethyl sulfide(DMS), Propanal, 2-Methylfuran, Butanal, 2,3-Butanedione, Pentanal, 2,3-Pentanedione, Dimethyl disulfide, Pyrrole, 2,5-Dimethylpyrazine, Furfural, cis-3-Hexanol, 1-Hexanol, Guaiacol, Ethyl decanoate, Indole, gamma-Nonalactone, beta-Damascenone, Coumarin を、各化合物の濃度が 10~2000 ng/mL となるように純水に添加し標準試料とした。試料は 100 μ L を 10 mL バイアルに入れ、自動 DHS サンプラー (GERSTEL DHS) にて分析した。

① 高揮発性化合物の捕集(Trap1)

試料温度: 25 $^{\circ}$ C, パージ体積(N_2): 150 mL, 捕集管: 炭素系マルチベッド(信和化工)

② 揮発性化合物の捕集(Trap2)

試料温度: 25 $^{\circ}$ C, パージ体積(N_2): 650 mL, 捕集管: 炭素系マルチベッド(信和化工)

③ 水溶性/低揮発性化合物の捕集(FEDHS)

試料温度: 80 $^{\circ}$ C, パージ体積(N_2): 3000 mL, 捕集管: Tenax TA

DHS でのサンプリング後、各捕集管は加熱脱着装置 (GERSTEL MPS2-TDU) にて、サンプリングとは逆順に連続的加熱脱着を行った (Tenax TA \rightarrow 炭素系マルチベッド)。3 本の捕集管の加熱脱着中は TDU 下部に位置する PTV 注入口 (GERSTEL CIS4) を低温に保つことで、加熱脱着した成分をクライオフォーカスした。加熱脱着終了後に PTV を昇温加熱することで全量を GC-MS (7890B, 5977 MSD; Agilent) に導入した。カラムは DB-WAX (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 mm df) を用い、MS は質量範囲 m/z 29-300 と設定した。

コーヒーは市販豆 8 g を 125 mL の熱湯でエスプレッソマシーン (ECAM23210; DeLongi) にて抽出した物を約 30 $^{\circ}$ C まで水冷し、100 μ L を 10 mL バイアルに入れてサンプルとした。

3. 結果と考察

3.1 パージ条件の検討

FEDHS では蒸気圧 (V.P.) が 0.0015~0.39 kPa の化合物については、Tenax TA 捕集管を使用して 85 % 以上の回収率が得られている³⁾。しかし、FEDHS のパージ量 (3 L) では、蒸気圧の高い化合物が破過するおそれがある。これは充填剤を炭素系吸着剤に変更することで破過を抑えられる可能性もあるが、逆に蒸気圧の低い化合物が加熱脱着時に脱離し辛くなり回収率が下がる懸念がある。そのため本検討では、蒸気圧が高い化合物をターゲットとした、従来法的な DHS パージ条件の検討を行った。

Acetaldehyde (V.P.: 120 kPa), Furan (V.P.: 79 kPa), DMS (V.P.: 64 kPa) などの化合物はパージ体積 150 mL で回収率が 95~98 % に達し、その後 250 mL 以上では破過による回収率の低下が確認された。

2,3-Butanedione (V.P.: 9 kPa), Pyrrole (V.P.: 1.3 kPa) は 650 mL で最大の回収率 103 % となった。

蒸気圧が低い Guaiacol (V.P.: 0.015 kPa), Indole (V.P.: 0.0016 kPa) については最大のパージ体積 800 mL においても回収率は 47 % と 29 % であったが、これらの成分は FEDHS で高回収率が期待できる。

以上の結果より Trap1 の捕集はパージ体積 150 mL, Trap2 は 650 mL と設定し、上記検討で回収率の低かった化合物については FEDHS にて捕集することとした。

3.2 標準試料の回収率の検討

標準試料(100 ng/mL)を用いた、各 DHS 条件における化合物の回収率を Table 1 に示す。Trap1 では Acetaldehyde~2-Methylfuran および Dimethyl disulfide で 95~101 % の良好な回収率が得られた。Trap2 では高揮発性成分の破過が見られたものの、Butanal~Pyrrole で 95~106 %、また FEDHS では 2,5-Dimethylpyrazine~Coumarin の蒸気圧が低い成分において 95~108 % の良好な回収率が得られた。Trap1, 2, FEDHS のそれぞれで DHS 条件に応じた蒸気圧範囲の良好な回収率が得られたため、3 つの捕集管を連続的に加熱脱着する MVM での検討を行った。MVM では全モデル化合物において 91~108 % の回収率が得られ、広い範囲の香気成分に適用可能であることを確認した(Table 1)。

Table 1

No. Compound	VP ^a (kPa)	<i>m/z</i> ^b	DHS Trap1	DHS Trap2	FEDHS	MVM
1 Acetaldehyde-d4	120	48, 29	98	71	0.29	97
2 Furan	79	68, 39	98	57	0.11	98
3 Dimethyl sulfide	64	62, 47	95	49	0.11	94
4 Propanal	42	58, 29	101	49	0.07	102
5 2-Methylfuran	21	82, 53	100	67	0.35	99
6 Butanal	14	72, 44	82	95	0.41	96
7 2,3-Butanedione	9	86, 43	59	103	0.15	106
8 Pentanal	4.2	58, 44	81	99	6.6	100
9 2,3-Pentanedione	3.9	100, 57	70	103	14	102
10 Dimethyl disulfide	3.1	94, 79	95	86	1.6	95
11 Pyrrole	1.3	67, 41	53	106	3.1	105
12 2,5-Dimethylpyrazine	0.39	108, 81	8.5	27	106	106
13 Furfural	0.11	96, 95	41	70	90	91
14 cis-3-Hexenol	0.11	82, 67	23	64	95	97
15 1-Hexanol	0.28	56, 69	43	77	96	97
16 Guaiacol	0.015	109, 124	5.2	25	102	103
17 Ethyl decanoate	0.0055	88, 102	58	67	92	91
18 Indole	0.0016	117, 90	6.3	21	106	105
19 gamma-Nonalactone	0.0016	85, 55	3.5	14	108	108
20 beta-Damascenone	0.0015	190, 121	47	76	98	97
21 Coumarin	0.000088	118, 146	0.9	2.8	100	101

^a Vapor pressure at 25 °C (kPa) of the analytes which were calculated with the EPI SuiteTM v4.10.

^b Selected ions for repeatability and quantification. The number shown in bold characters is target ion.

3.3 MVM によるコーヒー中の香気成分の分析

Fig. 2 に FEDHS と MVM によるコーヒーのトータルイオンクロマトグラム(TIC)の比較を示す。2 つのクロマトグラムは 4~11 分付近で最も大きく異なり、MVM でのクロマトグラムでは 10 以上の高揮発性化合物を検出した。Aroma Extract Dilution Analysis(AEDA)法による Flavor Dilution(FD) factor が大きく、コーヒーのにおいへの寄与が大きい Acetaldehyde, 2,3-Butanedione, 2,3-Pentanedione^{6),7)} は MVM のクロマトグラムのみで検出された。左記以外の FD factor が大きな化合物としては、Furaneol, Guaiacol, Vanillin, 4-Vinyl guaiacol^{6),7)} が両方のクロマトグラムで検出されており、これらの親水性が高く蒸気圧の低い化合物の捕集には FEDHS が大きく寄与していると考えられる。

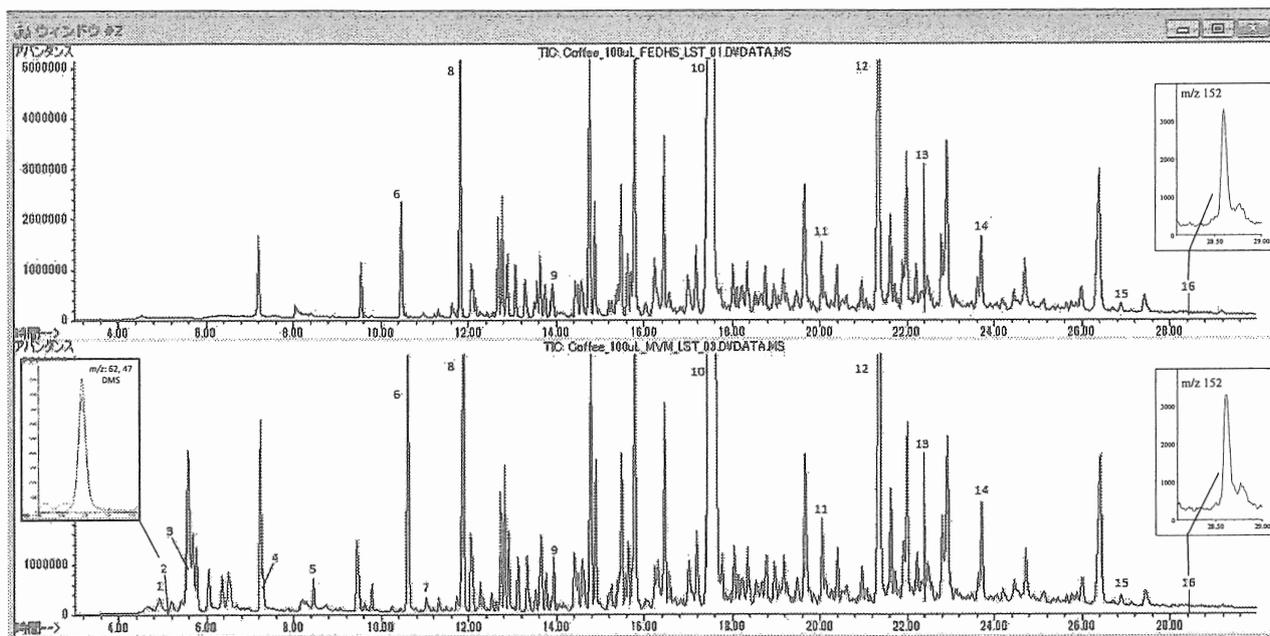


Fig.2 FEDHS と MVM によるコーヒーの TIC の比較(上段: FEDHS 下段: MVM)

1. Acetaldehyde, 2. DMS, 3. Furan, 4. 2,3-Butanedione, 5. 2,3-Pentanedione, 6. Pyridine, 7. Pyrazine, 8. 2,5-Dimethylpyrazine, 9. Furfural, 10. Furanmethanol, 11. Guaiacol, 12. Maltol, 13. Furaneol, 14. 2-Vinylguaiacol, 15. Indole, 16. Vanillin

3.4 標準添加法と絶対検量線法の比較

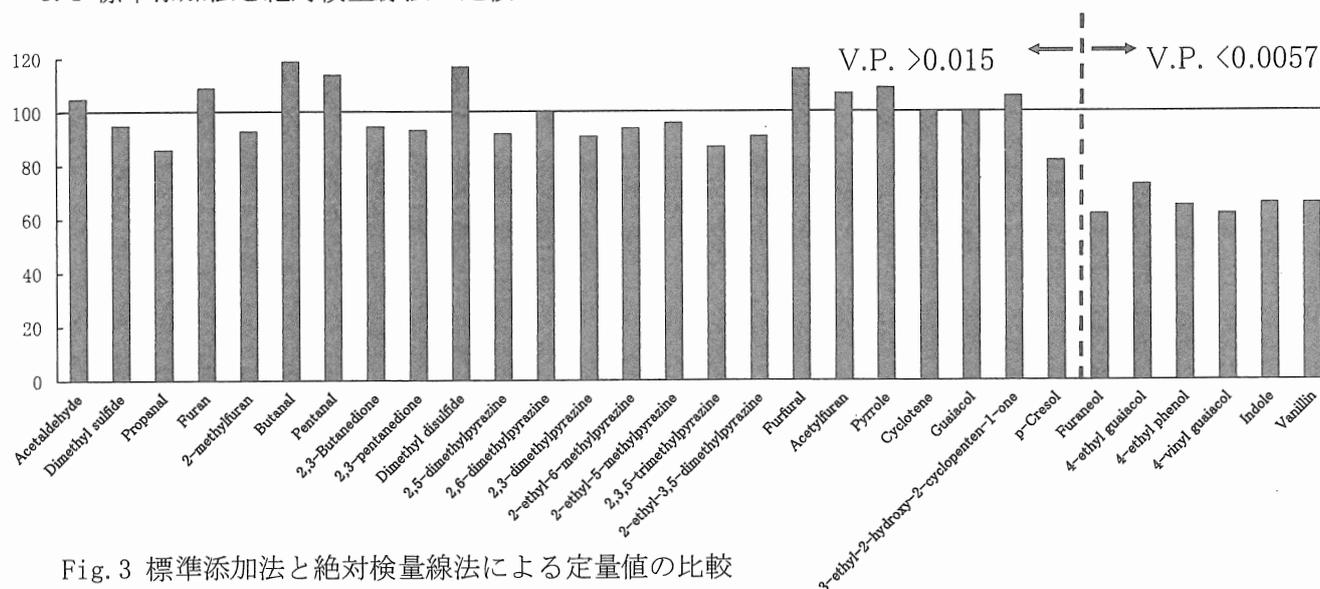


Fig.3 標準添加法と絶対検量線法による定量値の比較

FET では試料を完全に気化させるため、揮発性の高い化合物は試料マトリクスの影響を考慮することなく絶対検量線法を適用できる場合がある。しかし、蒸気圧が低い化合物や試料中の不揮発性成分と強い親和力を持つ化合物については回収率が低下する可能性があり、FEDHS では標準添加法を用いることが多い。揮発性の高い化合物の分析が可能な MVM で絶対検量線法の適合性を評価するため、30 化合物の標準添加法と絶対検量線法による定量値の比較を行った。10~5000 ng/mL の範囲で作成した 7 点

検量線はいずれの化合物においても良好な直線性($r^2 > 0.9910$)と、再現性(1.2~9.3 %, n=5)を示し、標準添加法により求めたコーヒー中の香気成分は74~3400 ng/mLであった。2つの手法による定量値の比較を Fig. 3 に示す。30 化合物の内、24 化合物(V.P. > 0.015 kPa)で定量値の比率は0.82~1.2が得られ、絶対検量線法を適用できる可能性が示された。しかし、Furaneol, 4-Ethyl guaiacol, Vanillin などでは比率が0.62~0.73と低下し、蒸気圧が低い化合物(V.P. < 0.0057 kPa)では標準添加法による定量が適すると考えられる。

4. まとめ

新たに連続的 DHS サンプリングによる、Multi-volatile Method を開発した。本手法を用いることで、今までは困難であった幅広い蒸気圧(V.P. 0.000088~120 kPa)の化合物を網羅的に一斉分析することが可能となる。MVM によるコーヒー中の香気成分分析では良好な直線性、再現性を示し ng/mL~ μ g/mL レベルの香気成分の定量が可能であった。さらに蒸気圧が0.015 kPa より大きい化合物においては、絶対検量線による定量が適用できる可能性があり、多量のサンプルを日常的に分析する際に有用になると考えられる。

5. 参考文献

- 1) M. Markelov, J. P. Guzowski Jr., Matrix independent headspace gas chromatographic analysis. The full evaporation technique, Anal. Chim. Acta 276 (1993) 235-245
- 2) A. Hoffmann, O. Lerch, V. Hudewenz, Fragrance profiling of consumer products using a fully automated dynamic headspace system, GERSTEL AppNote 8/2009, 2009.
- 3) N. Ochiai, K. Sasamoto, A. Hoffmann, K. Okanoya, Full evaporation dynamic headspace and gas chromatography-mass spectrometry for uniform enrichment of odor compounds in aqueous samples, J. Chromatogr. A, 1240 (2012) 59-68.
- 4) N. Ochiai, K. Sasamoto, K. MacNamara, Characterization of sulfur compounds in whisky by full evaporation dynamic headspace and selectable one-dimensional/two-dimensional retention time locked gas chromatography-mass spectrometry with simultaneous element-specific detection, J. Chromatogr. A, 1270 (2012) 296-304.
- 5) N. Ochiai, J. Tsunokawa, K. Sasamoto, Andreas Hoffmann, Multi-volatile method for aroma analysis using sequential dynamic headspace sampling with an application to brewed coffee J. Chromatogr. A, 1371(2014) 65-73
- 6) I. Blank, W. Grosch, Aroma impact compounds of Arabica and robusta coffee. Qualitative and quantitative investigations, in: proceedings of 14th ASIC Colloque, San Francisco, 1991, pp117-129.
- 7) K. Kumazawa, Flavor chemistry of tea and coffee drinks, FSTR 12 (2006) 71-84.

MEMO

A series of horizontal dashed lines for writing.

GC/MS による食品分析手法のご紹介！産地特定編

(LECO ジャパン合同会社) ○西村 泰央

【諸言】

食品分析の検査分析などを行う過程では食の安全性・信頼性の確保を行うとともに、おいしさや香り、風味の追求など、より高度で厳しい要求を満たすため新しい分析手法の開発が求められている。弊社では、GC/MS を用いたスクリーニング分析として検体間のキャラクター化を行い、食品の「美味しさ」「健康性」「産地、品質」「異臭原因」といった様々な分析項目におけるワークフローの検討を行っている。本発表では、コーヒーの香気成分分析による産地特定手法について紹介を行う。

【ワークフロー】

ノンターゲット法によるサンプル分析および、統計解析手法を用いて評価する。(図1)分析には弊社 Pegasus4D GCxGC-TOFMS を用い、異なる極性分離特性による二次元分離及び高い再現性を可能にする独自のモジュレーター、高速スペクトル読み込みにより網羅的なサンプル分析を実現している。解析には ChromaTOF ソフトウェア (LECO 社製) を用い、ピークの自動検出・エリア値計算を行い、ソフトウェア内の

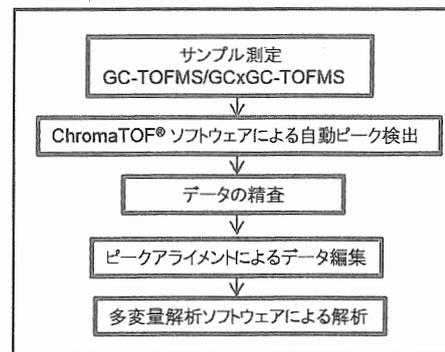


図1. ワークフロー

機能の1つである統計解析ツール、Statistical Compare によりピークリスト統合及びアライメントを行った。データの精査として有意差の指標である Fisher Ratio 値 (FR 値) の算出を行い、各々のサンプルに特徴的な化合物を抽出し、多変量解析ソフトウェアにインポートする。多変量解析では産地情報と組み合わせることにより評価を行った。

【分析】

スタンダードサンプルとしてストレート豆3種 (アフリカ産、東南アジア産、南アメリカ産)、未知サンプルとしてブレンド豆2種の計5サンプルを使用した。各サンプルをミルで同粒度に粉砕し、約5mgを10mlバイアルに入れ固相抽出素子 (マジックケミソーバー、フロンティアラボ社製) に吸着させた。(図2) 吸着は、バイアルをオープン

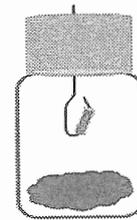


図2. 吸着方法

に入れ、80℃で30分間行った。吸着させた固相抽出素子をマルチショットパイロライザー (フロンティアラボ社製: PY3030) で加熱脱着させ、GCxGC-TOFMS で分析を行った。分析に使用するカラムは、1次は無極性で沸点分離を行う Ultra-Alloy1 を使用し、2次に極性分離を行う中極性の BPX-50 を使用して2次元分離を行っている。

【結果と考察】

固相抽出-加熱脱着法によるコーヒーの2次元 GC/MS 測定結果からデコンボリューション機能を搭載する ChromaTOF ソフトウェアを用いて自動ピーク同定を行った。結果、検出された約 500 化合物について検体間比較を行う Statistical Compare ソフトウェア (LECO 社製) によりピークのアライメントを行い、各成分の FR 値を算出した。検体間の分散比から求められる FR 値は、ピーク強度に関わらずデータの再現性及び検体間の変動を同時に捉えることが可能であり、各検体の特徴に寄与する化合物の

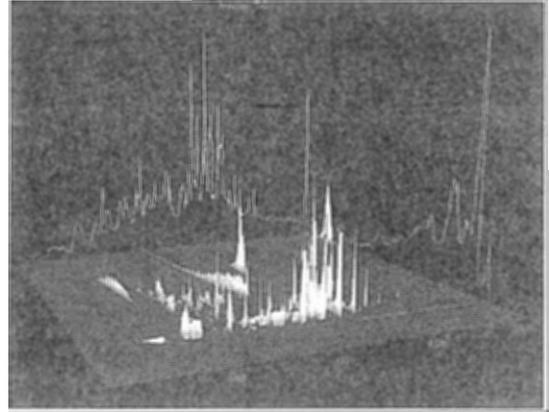


図 3. 2次元クロマトグラム

抽出、検体間の微小な差異を捉えるために非常に有用で効率の良い精査方法であると考えられる。更に、FR 値により精査されたサンプルの特徴に高く寄与する化合物を用いて多変量解析を行うことにより、サンプル間の微小な差異を明確に表現することができる。

多変量解析では、クラスター解析と主成分分析の手法を用い、産地情報とともに解析をすることで評価を行った。クラスター解析では、ヒートマップよりストレート豆各種に特徴的な化合物の抽出ができ、系統樹からサンプル間の類似性情報が得られた。主成分分析では、スコアプロットからサンプル間の関係性の判断ができ、ローディングプロットからサンプルへの影響が大きい化合物の抽出ができた。産地判別手法としては、主成分分析のスコアプロットを使用し、ストレート豆とブレンド豆の関係性から判断を行った。(図 4) ブレンド品の解析結果は、実際の配合と同様の情報を示しており本ワークフローは、産地判別手法として有効であると推定された。

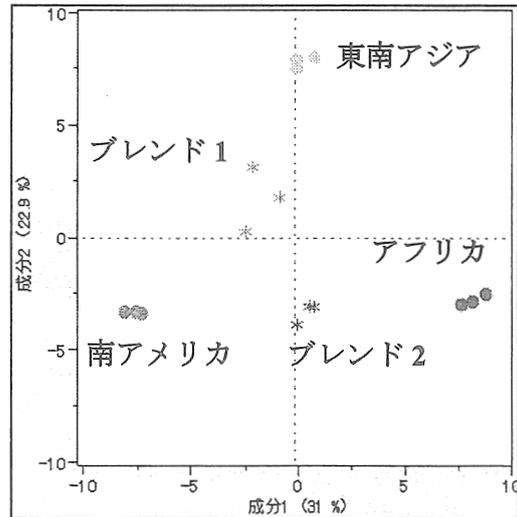


図 4. スコアプロット

本ワークフローによる香気成分分析では、2次元 GC/MS による網羅的ノンターゲット分析と多変量解析を組み合わせる事により、膨大な情報の中から検体の微小な特徴を捉えることが可能であった。

産地情報と合わせる事により、其々の産地特有な化合物を抽出することができ、ブレンド豆に用いられた各種豆の産地を特定に有用であると考えられた。この手法は、コーヒー豆のみならず、他食品のフレーバー分析・オフフレーバー分析としても応用が可能であり、多変量解析を通じ官能試験や化学分析結果と総合的に評価することで、応用範囲はさらに高まると期待される。

スローフードとその網羅的分析法

ジーエルサイエンス (株) 宮川 浩美 (みやがわ ひろみ)

スローフードとは

スローフード (slow food) とは標準化、画一化された安価なファストフード (fast food) に対して唱えられた考え方でその土地の伝統的な食文化や食材を見直す活動、またはその食品自体を指す。日本では古くから自然で低カロリーの米食や郷土食、そして地方の特色ある食材や清酒、焼酎などがあり、日常のなかでスローフードが実践されてきた[1]。スローフードは本来、収穫された季節や年度を含めて、その地方の風土や文化にふれながら「旬」を楽しむべきかもと、旅をしたときに感じるのは演者だけではないと思う。

しかしその一方で、流通や販売の進歩により、北海道から沖縄まで同じ食材で同じ味の食事をするのが可能になってきた。また「和食」が世界遺産に登録されたことやそのヘルシーさに魅せられて、海外でもブームになっていると聞く。フランスにはワインのはずであったのが、それにあう日本酒も生産されているという。まだ国内消費量の2%と少ないものの、国税庁が発表している輸出動向によると、日本酒の輸出も増えており過去最高 (平成 25 年度 105 億円) を記録している。品質の安定した美味しいものを、リーズナブルな価格で世界中の人々に提供したいということは、生産者の願いとして自然であると思う。入手した素材の特性に合わせ、美味しさのあるレベルに保ちながら生産量を増やしていくには、勘と経験だけでなく科学と工学の技術が不可欠である。

また、清酒、味噌、醤油、納豆、豆腐、胡麻などに代表される日本の伝統食品は、人に食の豊かさを与えるだけでなく、健康の維持・促進に関わる様々な機能性を有することが分かっている。ニュートリゲノミクス (栄養ゲノム科学) の興隆やメタボロミクスなどの解析技術の発展、大量の情報を扱うインフォマティクス技術により、食品中の機能性物質の産生・代謝経路や、また人への作用メカニズムも明確になりつつある。たとえば、アラキドン酸は脳機能を活性化させるという報告や、一方で COX (cyclooxygenase) の作用を受けたアラキドン酸の代謝物は腫瘍の血管新生を促進させる報告など事例は多くある。詳細は文献やデータベースを参照してほしい。(社)日本生物工学会のスローフード微生物工学研究部会は醸造食品の機能性に関する研究成果 (公開特許や総説、原著論文、学会発表など) をデータベースにまとめてホームページで公開しており (http://www.sbj.or.jp/division/division_slowfood_database.html)、農研機構もデータベースを公開し始めている (<http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introduction/chart/0304/index.html>)。

GC による代謝物の網羅的分析法

(趣旨：現状、揮発性物質と不揮発性物質のメソッドは分け、不揮発性物質はトリメチルシリル化を行う)

代謝物の化学的性質は多岐にわたる。食品中に存在する代謝物類は、エステル、テルペン、アルカロイド、ピラジン、アミノ酸、有機酸、糖、脂質などで、それらは様々な物性 (極性、沸点) を示す。そのため、これらの多様な代謝物を一度に測定するのはかなり難しい。親水性化合物を GC で測定する

には誘導体化の操作が必要であり、そのほとんどの反応でサンプルを乾燥させ、熱をかける工程がある。また揮発性が高く閾値が高い物質を、ヒトの鼻が感じるのと同程度の濃度範囲まで測定し検出するためには濃縮操作が必要となる。揮発性物質の濃縮は吸着剤で捕集し、加熱脱着もしくは溶媒脱離で GC へ導入する方法を一般的には行うが、この過程に誘導体化反応の操作を入れるのは無理がある。これらの化合物を一回の測定で網羅できる手法は今のところなく、未知化合物の同定を行う際に利用するマススペクトルライブラリーの整備状況をみてもメソッドを分けるのが妥当である。

演者は代謝物の中でも誘導体化を要する親水性化合物のライブラリー構築に携わったことから、ここではそれらを対象とした網羅的分析法について紹介し、併せて注意して欲しい点を記載する。実際のプロトコルを要旨の後ろにつけたので参考にして欲しい。

<誘導体化法と同定>

アミノ酸、有機酸、糖などの親水性化合物はアルコール性水酸基、フェノール性水酸基、カルボキシル基、カルボニル基、アミノ基、チオール基などの官能基をもつ。これらの多様な官能基を一度の誘導体化反応で修飾することができるのはトリメチルシリル (Trimethylsilyl : TMS) 化である。親水性化合物を対象とした網羅的分析法では、この TMS 化とカルボニル基の保護を行うためのメトキシ化とを組み合わせた誘導体化方法が一般的に使用されている[2,3]。

未知化合物の同定は標準物質を測定し同定するのが理想であるが、実際は保持情報 (保持時間や保持指標) とマススペクトルにより行うことが多い。メトキシ化と TMS 化をうけた代謝物の保持情報やマススペクトルが収録されたライブラリーと、そのライブラリーを使用してピーク同定を自動で行うことができ多変量解析までをサポートしているソフトウェア AIoutput がフリーで公開されたこと (http://prime.psc.riken.jp/Metabolomics_Software/AIoutput/index.)、また、NIST の質量スペクトルデータベースにおけるメトキシ化と TMS 化された成分の収録数が増加したこと、研究者がマススペクトルを共有することを目的としたデータベース MassBank (<http://www.massbank.jp/>) に基礎代謝、二次代謝物質の登録数が増えていることなどにより、未知化合物を同定する際にはとても便利になった。また、エステル化とアシル化を組み合わせ、親水性化合物を網羅的に測定する方法もあるが、ライブラリーが整っていないのが現状である。

<TMS 化の注意点>

TMS 化は多様な官能基を修飾できるという点では非常に便利であるが、次にあげる点に留意する必要がある。(1) ほとんどの GC メタボローム分析のプロトコルにおいて TMS 化の反応温度・反応時間は 37°C・30min で振とうするとあるが、この条件は全ての代謝物において最適な条件ではなく、代謝物を網羅的に測定するための便宜的な条件なのだと思う。この条件の終了時点では TMS 化反応が最後まで進行している成分と反応の途中の成分が混在している状態である。それでは反応時間を長くすれば良いのではと考えると思うが、一部では分解や変性が始まってしまう。この具体的事例は技術講演の中で紹介する。(2) TMS 化反応は水の存在により分解が起こる。TMS 化の前に行うメトキシ化ではピリジンを用いるが、ピリジンは吸湿性が高いため脱水したピリジンを使用するのが良い。脱水したピリジンを使用する場合と脱水していないピリジンを使用する場合の違いでも TMS 化反応には影響があるので注意が必要である。これら (1)、(2) は官能基により TMS 化物の反応性と安定性が異なるのが要因である。(3) 立体障害により官能基を修飾できない場合があり、その時は想定した構造と異なることを示している。(4) 果実のような糖の含量が多いサンプルでは糖のピークの中に目的成分が埋もれ、見落としてし

まうことがある。その場合は糖を誘導体化せず、アミノ酸や有機酸を選択的に誘導体化するアルキル化剤を用いると解決できる場合がある[4]。

<容器の問題>

メタボローム分析での抽出、誘導体化で汎用的に用いられる容器はマイクロチューブであり、その材質はガラスではなく、ポリプロピレンである。そのため、有機溶剤の種類・浸漬時間によってはチューブからの溶出物が網羅的分析に影響してしまうことがある。

美味しさと網羅的分析法

美味しさは香り、味、色、食感が組み合わさったものであり、官能試験において評価されてきた。しかし、官能試験は個人の感情、主観が入ってしまうこと、また体調に左右されること、高額な費用がかかるという欠点がある。そのため、官能試験と合わせて機器分析を用い、香りや味に関与する代謝物の網羅的分析法が行われている。日本酒においては官能評価と香気成分、親水性化合物などの代謝物を測定した結果を相関づけ、品質を予測できる化合物も報告されている[5,6]。

おわりに

メタボローム分析の標準試料を準備すると、その保存性に苦勞を感じているのは演者だけではないと思う。味に関わるグルタミン、アスパラギンなどの変化の速さには驚かされている。食品の酵素が生きているや否やということも重要であるし、複雑な化学変化が進行している食品の、いつが美味しいかといつサンプリングして前処理に供するかは、同じテーマであり、今後の重要な課題である。

参考

次に示すプロトコールはGC/MS分析に供するための前処理方法と測定条件である。サンプルをメタノール-水-クロロホルム溶液で抽出後、分相させ、水層に分配される水溶性化合物（アミノ酸、有機酸、糖など）を誘導体化し、GC/MSで測定するメソッドである。本メソッドは大阪大学福崎研究室で使用されているプロトコール[3,7,8]をモディファイしたものである。

味噌を一例として前処理方法と測定条件を記載する。

<抽出操作>

1. 2.0 mL マイクロチューブ (Eppendorf) にサンプルを 10 mg 量りとる。

※味噌は多糖類などが多く含まれているため、凍結乾燥を行うとねちょねちょになってしまい、上手くサンプリング出来ないことが多い。

2. メタノール/水/クロロホルム (5/2/2, v/v/v) の混合溶液 1000 μ L を 1 のマイクロチューブに入れ、ミキサーにて攪拌する。

3. 内標準物質 (Ribitol 水溶液 0.2 mg/mL) 60 μ L を 2 のマイクロチューブに入れ、ミキサーにて攪拌する。

4. 振とう機 (TAITEC, M・BR-022UP) でマイクロチューブを振とうし、抽出する (37°C, 30 min)。

5. 遠心分離機 (16000 g, 4°C, 3min) に 4 のマイクロチューブをかけ、上澄み液 800 μ L を 1.5 mL マイクロチューブに移す。

6. 超純水 400 μ L を 5 の上澄み液に加え、同条件で遠心分離をした後、新しい 1.5 mL マイクロチューブに水層 (上層) 50 μ L をとる。

※ピーク強度に応じて水層 (上層) をとる量を増やす。水層 (上層) は 800 μ L 程度までとれる。

※味噌の場合は糖類が多いので、サンプル量が多いと誘導体化が進みづらい場合がある。

※水層（上層）と有機層（下層）の間にある中間層にはタンパク質や多糖類が凝集しているのでとらないように気をつける。

<誘導体化のための操作>

7. マイクロチューブに穴をあけたキャップをつけ、遠心濃縮機で約 10 分、室温でサンプルを濃縮する。

※6 で水層（上層）を 800 μ L とった場合は濃縮時間を約 2 時間とする。

8. マイクロチューブを液体窒素で凍結した後、凍結乾燥機（TAITEC, Freeze Dryer VD-800R; ULVAC, Dry Vacuum Pomp GLD-051）で約 1 時間サンプルを乾燥させる。

※6 で水層（上層）を 800 μ L とった場合は乾燥時間を一晩とする。

9. キャップをとり、乾固したサンプルに Methoxyamine hydrochloride (20 mg/mL pyridine 溶液) を 100 μ L 入れ、マイクロチューブのキャップをしめる。溶解させ、振とう機（TAITEC, M・BR-022UP）で振とうし（30°C, 90 min）、メトキシ化をする。

※10 で行う TMS 化は水が混入すると加水分解をおこし、結果に影響する。

ピリジンは水を吸収しやすい溶媒のため、脱水したものを使用する。

10. マイクロチューブのキャップを開け、*N*-Methyl-*N*-trimethylsilyl-trifluoroacetamide (MSTFA, GL Sciences, 1g アンプル) を 50 μ L 入れ、キャップをしめ、混合する。同振とう機で振とうし（37°C, 30min）、TMS 化をする。

※ここで使用する MSTFA は、試薬の加水分解を防ぐためにアンプルの使い切りを推奨する。

11. サンプルをバイアルに移し、GC/MS で測定する。

※サンプル量が少ないため、ここで使用するバイアルはインサート一体型、もしくはインサートを使用するのが良い。

<GC/MS 測定条件>

GCMS-QP2010Plus、GCMS-QP2010Ultra (Shimadzu)

※本プロトコールにおいて GCMS-QP2010Plus ではピーク幅 3 秒の 1 ピークあたり 35 点のデータを、GCMS-QP2010Ultra では 1 ピークあたり 70 点のデータを取得可能である。

InertCap 5MS/NP 0.25 mm x 30 m, df=0.25 μ m (GL Sciences)

インジェクションモード：スプリット

スプリット比：25:1

※ピーク強度によってスプリット比を変更する。

インジェクション温度：230°C

オープン温度：80°C で 2 min 保持後 15°C/min で昇温、330°C で 10min 保持

線速度：39 cm/s

※圧力制御の場合は 75 kPa、カラム流量制御の場合は 1.2 mL/min を目安に設定する。C9 から C40 までを測定し検出できるようにオープン温度 330°C で保持する時間を確認する。

ページ流量：5 mL/min

インターフェイス温度：250°C

イオン源温度：200°C

イオン化電圧：70 eV

分析モード：スキャン

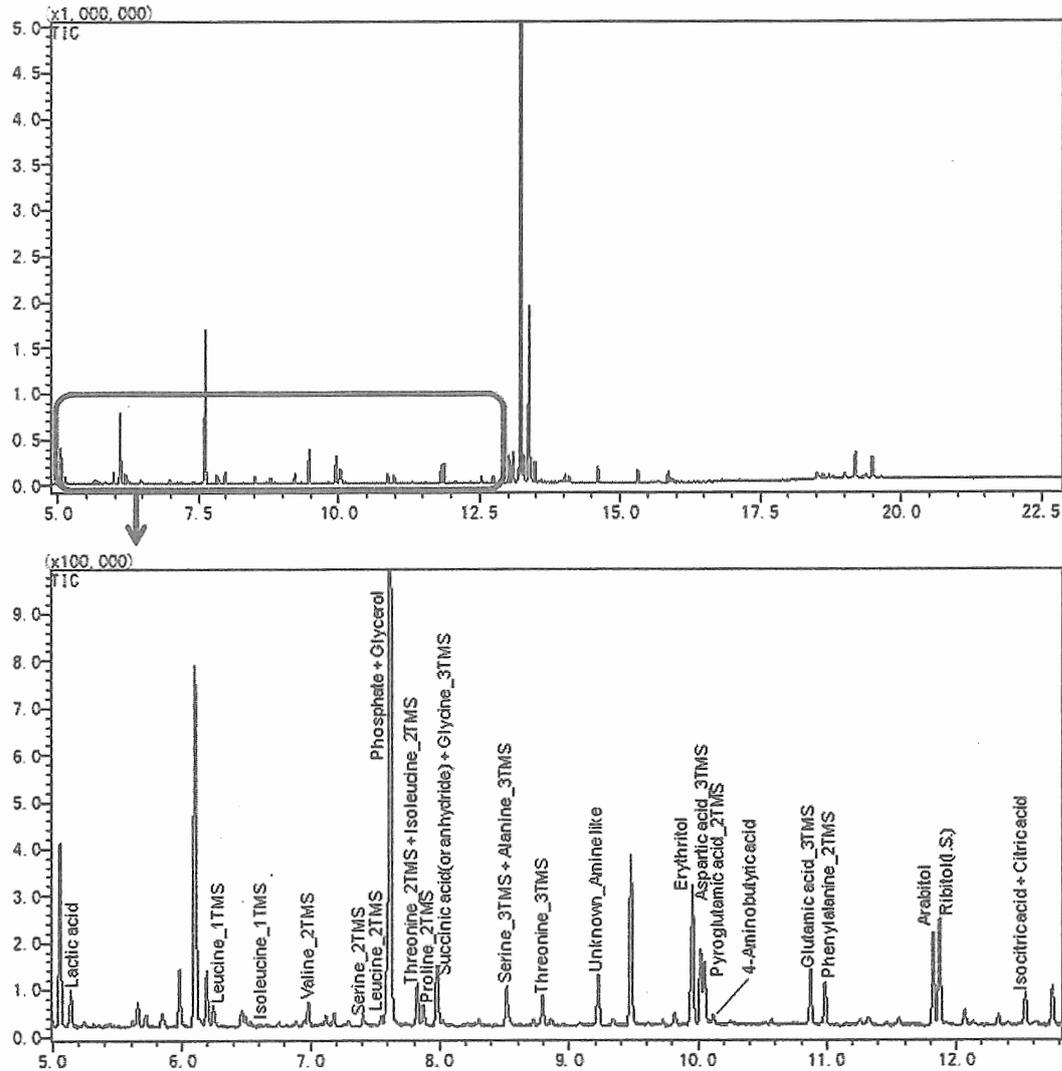
スキャンレンジ：m/z 85~500

スキャンスピード：5000 u/s (GCMS-QP2010Plus)、10000 u/s (GCMS-QP2010Ultra)

検出器電圧：オートチューニング結果から

溶媒カット時間：3 min

データ採取時間：4~28 min



味噌をプロトコールに従い前処理し、測定した TICC

参考文献、他

- [1] 日本大百科全書 (ニッポニカ)
- [2] Fiehn O. *et al.*, *Analytical chemistry* 72, 3573-3580(2000)
- [3] Fukusaki E. *et al.*, *Journal of biosciences* 61, 267-272(2006)
- [4] Miyagawa H., *Metabolomics* 2014, P231
- [5] 磯谷 敦子, *生物工学会誌* 89, 720-723(2011)
- [6] Mimura N. *et al.*, *JBB* 118(4),406-414(2014)
- [7] ESI 友の会, 実践的メタボローム分析プロトコール イチから始めるメタボローム分析
<https://sites.google.com/site/esitomonokai/>
- [8] 津川裕司, GC/MS を用いたメタボロミクス研究のワークフロー
<https://sites.google.com/site/esitomonokai/>

MEMO

A series of horizontal dashed lines for writing.

主題講演 3：豊かな文化を支えるガスクロマトグラフィー

〔招待講演 3〕

ニオイ分析による文化財保存のためのカビ種推定ソフトウェア研究

(奈良女子大学) 竹内孝江

〔主題講演 3〕

GC/IRMS による酒や燃料中エタノールの炭素と酸素安定同位体比の測定による原料植物の分類

((一財) 日本自動車研究所) 秋山賢一

〔技術講演 3〕

GC/IRMS の基礎

(サーモフィッシャーサイエンティフィック(株)) 秋山賢一郎

ニオイ分析による文化財保存のためのカビ種推定ソフトウェア研究

奈良女子大学自然科学系化学領域 竹内 孝江

1. はじめに

古墳や博物館などにおいて文化財が微生物によって損傷を受ける例が多数報告されている。¹⁻³ キトラ古墳では、ペニシリウム属やフザリウム属などが発生したため、壁画が損傷を受けた。通常、カビを目視できる段階では、10万個から100万個の胞子がすでにできているため、その状態になってからではカビを制御するのは困難である。文化財環境における微生物汚染をできるだけ少なくするためにはカビの発生を迅速に検出する手法の開発が必要である。

カビは、初期の成長段階から揮発性代謝物(MVOC)、いわゆるカビ臭を放出している。我々は、MVOCに着目し、カビのニオイ計測により土壌由来カビを検出する方法を検討した。GC/MSおよびイオンモビリティ(IMS)を組み合わせ、環境中でカビが出す揮発性代謝物(MVOC)のオンサイト計測によりカビの種類および成長段階を予測する手法とソフトウェア“MVOC Finder”を開発した。⁴⁻⁷

2. 実験方法

(1) 4種の土壌由来カビのMVOCの同定とMVOCの放散量の経時変化

化学成分が既知の合成培地である改変型 Czapek-Dox 寒天培地を用い、土壌由来のカビ(*Penicillium paneum*, *Fusarium solani*, *Aspergillus fumigatus*)および遺伝子が既知の *Aspergillus nidulans* をバイアル瓶中で培養した。培養温度は *A. fumigatus* 菌株と *A. nidulans* 菌株は 37℃、その他の菌株は 28℃、培養日数は 1~10 日とした。所定の培養時間が経過した後の 24 時間に発生した MVOC を、ヘッドスペース固相マイクロ抽出 GC/MS (HS-SPME GC/MS) 法によって同定した。時間の経過とともに MVOC の放散量が変化する成分のみを MVOC とし、変化しない成分は環境物質とした。カビ種、成長段階および生育環境と MVOC の関係を検討した。

(2) イオンモビリティースペクトロメトリー (IMS) によるオンサイト分析⁷

オンサイトでカビの同定を行うためには、大気圧で測定可能な小型のイオンモビリティースペクトロメーター(IMS)が適する。IUT社製IMS-miniを用いて、上述の4種のカビのMVOCのIMSスペクトルを測定し、カビ臭のデータベースを構築した。

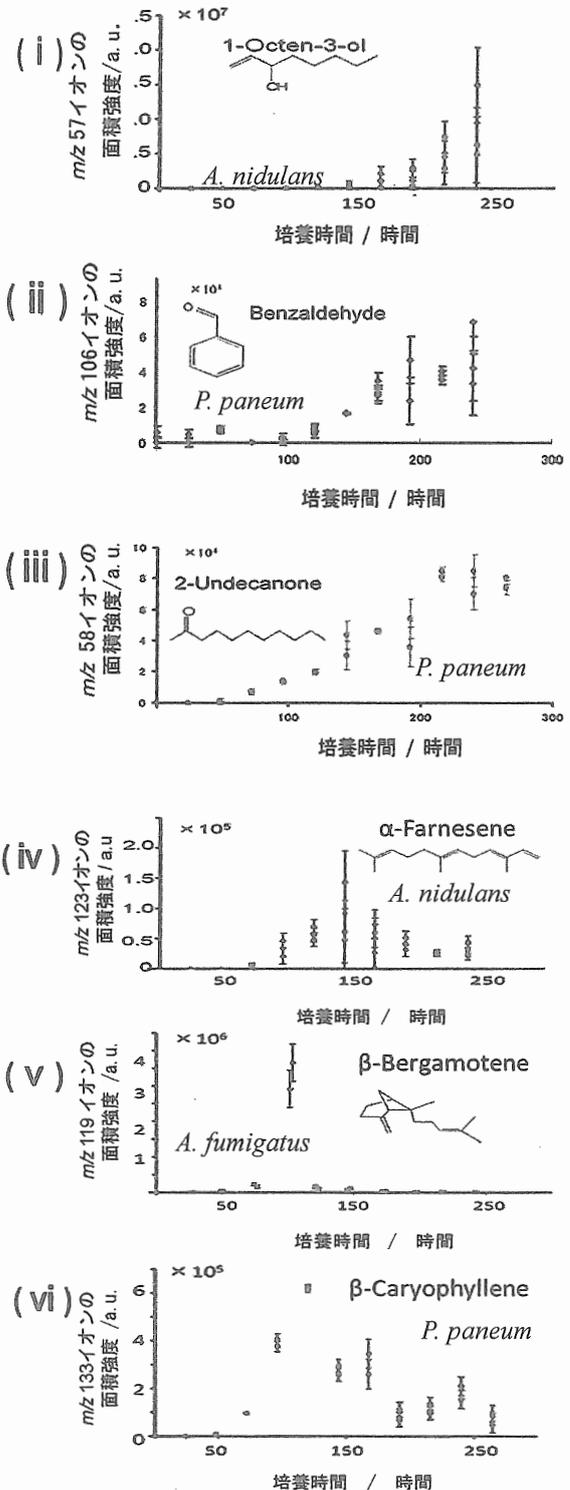


図1 培養時間に対するカビのMVOC放散量の変化⁶

3. 結果と考察

(1) 胞子形成とセスキテルペンの放散⁶

MVOCの種類と量の経時変化を調べた結果、カビは胞子形成時にのみカビ種に特有なセスキテルペンを発生することがわかった(図1参照)。

(2) 胞子数と3-オクタノンの放散量⁶

低分子の有機酸、ケトン、アルデヒド、アルコール類のMVOC量はカビ菌株数とともに増加し、これらはどのカビ種にも共通に生成するMVOCであった(図1参照)。3-octanoneの m/z 99のEICクロマトグラムピーク面積は、*P. paneum*の胞子数の増加と共に増加した。

4. カビ種判定ソフトウェア"MVOC Finder"の開発とカビ種同定^{4,5}

ニオイ分子をイオンモビリティスペクトロメーターや質量分析装置により測定し、そのスペクトルがどのカビによるものかカビ種を推定できるソフトウェア"MVOC Finder"を開発した。4種の土壌由来カビの収録スペクトルデータ数は22,000件である。

カビ種ごとの放散ガス全体のIMSドリフトグラムまたはGC/MSの全イオン電流(TIC)クロマトグラムを直接説明変数とし、多変量解析を用いて、カビ種を同定した。多変量解析の手法としては、複数のMVOCが強い相関を持って変化している可能性が高いため、多重共線性による問題を回避できるPLS(Partial Least Squares)回帰分析を用い、判定モデルの構築を行った。

判定性能の評価は、クロスバリデーションによって行い、ROC(Receiver Operating Characteristic Curve)カーブを描き、AUC(Area Under the Curve)から性能を評価した。

"MVOC Finder"を用いて、未知のカビ種から放散されたMVOCのGC/MSデータを多変量解析した。そのPLS解析Biplotによりカビ種を特定した。PLS解析によるカビ種ごとの判定関数による差分スペクトルの判定値を表1に示した。判定値はサンプルの主成分空間上でのベクトルの重回帰係数を作用させた結果で、大きいほど真である(通常1.0~0.0)。*A. nidulans*の値は0.999である。以上より、この未知試料は*A. nidulans*のMVOCであることがわかった。

IMSとGC/MSのいずれの装置でも正答率は90%以上であった。クロスバリデーションで得られた結果を考察したところ、PLS回帰によって得られている成分の第5成分までで、この判定性能が得られることが分かった。

5. 結論

ニオイ分析でできるだけ早くカビを検知し、そのカビの種類や生育状況を推定するトータルシステムを開発した。多変量解析を用いて、IMSおよびGC/MS測定スペクトルからカビ種を推定するソフトウェア"MVOC Finder"を構築した。

セスキテルペンの種類によって、カビ種の同定や

カビの生育段階に関する情報を得ることができた。また3-オクタノンなどの発生量によってカビの胞子数を知ることが可能であることがわかった。

さらに、カビの生活史におけるMVOCの働きの解明にも取り組んでおり、文化財保全へ貢献できるよう努力しているところである。

謝辞

本研究は、(独)科学技術振興機構 産学イノベーション加速事業【先端計測分析技術・機器開発】ソフトウェア開発(2009-2012)および科学研究費助成 基盤研究(C)オミクス計測(課題番号 24619003)の支援によって行われた。

参考文献

1. Kigawa R.; Arai, H. *Science for Conservation* 1995, 34, 8-12.
2. (a) Kigawa R. *et al. Science for Conservation* 2005, 44, 165-171. (b) *ibid.* 2006, 45, 93-105. (c) *ibid.* 2008, 47, 129-134.
3. Sano, C.; Inuzuka, M.; Mabuchi, H.; Kigawa, R.; Yoshida, N.; Morii, M.; Kato, M.; Furihata, J.; Ishizaki, T.; Miura, S. *Science for Conservation* 2008, 47, 135-171.
4. (独)科学技術振興機構(JST) 研究成果展開事業【先端計測分析技術・機器開発】装置開発 2007-2009, ソフトウェア開発 2009-2012.
5. 特許出願 (a)「特定カビ種存在判定システム, 特定カビ存在判定関数取得装置, 特定カビ種存在判定装置, 特定カビ種存在判定方法及びプログラム」特願 2012-238876, 出願日 2012年10月30日. (b)「IMSドリフトタイム予測装置, IMSドリフトタイム予測方法およびプログラム」特願 2012-254179, 出願日 2012年11月20日.
6. Takeuchi, T.; Kimura, T.; Tanaka, H.; Kaneko, S.; Ichii, S.; Kiuchi, M.; Suzuki, T. *Surf. Interface Anal.* 2012, 44, 694-698.
7. Takeuchi, T.; Tanaka, H.; Ichii, S.; Kimura, T.; Kiuchi, Y.; Nakamura, Y.; Sugai, T.; Akashi, T.; Kiuchi M.; Suzuki, T. *International Symposium on the Conservation and Restoration of Cultural Property 2012: Microbial Biodeterioration of Cultural Property*, Tokyo, 2012.

表1 未知試料のカビ種のMold Type Prediction 値

Data ID	<i>A. fumigatus</i>	<i>A. nidulans</i>
kabi.3047.16775	0.001182	0.999339
	<i>F. solani</i>	<i>P. paneum</i>
	0.000079	0.000568

1. 安定同位体比計測による起源推定

同位体原子が組み込まれている分子やイオンなどをアイソトポマーと呼ぶ¹⁾。従来は、生物の居住してきた地域の環境を摂取した水の酸素原子の安定同位体比から推定できることなどから考古学などに応用され、物質循環の定量的な解析や地球環境変化の解析などにも応用されてきた。吉田らは、 N_2O のアイソトポマーの計測により対流圏と成層圏との関係を明らかにし、その論文²⁾はnatureに掲載されるなど、各種の分野でプロセスや起源推定などに応用されてきた。また、極微量な大気中の有害大気汚染物質の起源推定^{3,4,5)}も行われている。

2. GC/IRMS による安定同位体比の計測

安定同位体比の計測によりいろいろな物質の起源が明らかにできる可能性があり、GC/IRMS (gas chromatograph/isotope ratio mass spectrometer) の普及により、物質ごとの炭素や酸素などの元素の安定同位体比の計測が容易になり多くのデータが公表されるようになってきた。とはいえ、僅かな質量の差を数値化しなければならないため、高い前処理技術や分析技術が必要である。

炭素の同位体比計測を例にとると、GC/IRMS ではGCで分離された物質を酸化し CO_2 として質量分析し安定同位体比を求める。GCではピークが物質ごとに分離されると同時に $^{12}CO_2$ と $^{13}CO_2$ も僅かに分離されるため、ひとつのピークに見えてもそのピークの位置で重さが違ってしまふ。そこで、物質ごとに完全分離することが信頼性確保に重要である。さらに、 ^{12}C の安定同位体である ^{13}C の存在量は約1%で、窒素では0.37%、酸素では0.20%、水素では0.015%しか存在しない。これらを同時に精度良く測定するためには、炭素であれば2桁差、酸素では3桁差を同時に高信頼性で検出可能な量になるように試料導入しなければならない。また、前処理や試料導入で同位体分別が起こらない対策も重要である。

3. エタノールの原料植物の識別

ここでは、クリーンな燃料としてまたカーボンニュートラルな燃料として注目されているエタノールは、いずれは植物由来と石油由来とを識別する技術が必要になると考えられ、その識別を可能にする技術として安定同位体比の計測を試した。炭素の安定同位体比は植物の光合成の仕組みにより変化することは知られている。酒は、その原料がはっきりしている場合が多いことから、試料として晩酌に飲んでいる各種の酒を分析してみた。さらに、特級試薬やサトウキビ製と表示された試薬、醸造用アルコールなども試料とした。その結果、醸造用アルコールとサトウキビ、特級試薬がほぼ同じ炭素同位体比であり、米、麦、葡萄などのグループと、玉蜀黍が原料のバーボンとの3グループに分類した識別が可能であり、醸造用アルコールのブレンド有無も判断することができた。この結果から、米国やブラジルのガソリンを分析し、米国ガソリンは玉蜀黍と、ブラジルガソリンはサトウキビに近い炭素安定同位体比であることも確認された。本日は時間の都合で酸素の話は除くが、石油から作ったエタノールは炭素同位体比は米麦グループに近かったが、酸素同位体比が大きく異なることから識別可能であった。

文献

- 1)小原, アイソトポマーの開く未来, LAND FALL Vol.41 (2000).
- 2)Yoshida, Toyoda, Constraining the atmospheric N_2O budget from intramolecular site preference in N_2O isotopomers, Nature, 405 (2000).
- 3)角皆, 山口, 小松, 中川, 蒲生, 秋山, 炭素安定同位体比を指標に用いた都市大気中ベンゼンの起源推定, 大気環境学会年会講演要旨集 (2003).
- 4)浅野, 秋山, 自動車排出ガスや燃料中の有害大気汚染物質の安定同位体比計測法の検討, 自動車研究 第27巻6号 (2005).
- 5)秋山, 大気中の有害大気汚染物質の安定同位体比計測による発生源推定法の研究, 第286回GC研究会特別講演会「地球規模の環境汚染」(2007).

Contents

1. はじめに
2. カーボンニュートラル
3. 安定同位体比で原料, 発生源情報を得る
4. GC/IRMS
5. 酒や燃料中エタノールの原料植物の分類

はじめに

CO₂による地球温暖化?
最近の異常気象との原因とも言われている?

石油などが原料の各種燃料, 都市ガス, プロパンガスなど
燃やせば, 今まで大気中になかったCO₂が発生する.

石油代替燃料としてエタノールが目されている.
植物から製造されるエタノール

↓
代替燃料
CO₂についてカーボンニュートラル

カーボンニュートラル

- カーボンニュートラル (carbon neutral) は
環境科学用語
 - 「環境中の炭素循環に対して中立」
 - 排出されるCO₂=吸収されるCO₂ という概念。
 - 植物は有機化合物(炭素原子を構造の基本骨格に持つ化合物)で出来ている。
 - 植物は、光合成により大気中のCO₂を取り込んで成長
 - 植物を燃焼させたCO₂の発生は、もともと大気中に存在した炭素原子であるため、大気中のCO₂総量の増減には影響を与えない。

カーボンニュートラル 問題点

- 植物由来の燃料製造・輸送過程で化石燃料を使用
 - バイオエタノールは、生産段階で化石燃料が使用され、環境負荷を増やすことが指摘されている。
- カーボンニュートラルには再生力(再生性)が必要
 - 化石燃料の燃焼で排出されたCO₂を植物に戻すのに長時間かかる。(排出されたCO₂のほとんどは大気中に長期間残る)
 - 広大な土地が必要
 - 化石燃料・原材料を植物由来燃料・原材料に転換するには広大な土地が必要になる。

石油・石炭の起源

- 生物由来説(有機成因論) 主流 我々はこのように習った
現在の学説の主流。百万年以上の長期間にわたって厚い土の埋積層に埋没した生物遺骸は、高温高压によって液体やガスの炭化水素へと変化し、岩盤内の隙間を移動し貯留層と呼ばれる砂岩や石灰岩など多孔質岩石に捕捉されて、油田を形成する。

無機成因論 地球自体が作る→無尽蔵?

- 生物由来説(有機成因論)
 - 百万年以上の長期間
 - 植物遺骸(動物も植物を摂食)→ カーボンニュートラル?

¹⁴Cと¹³Cで分かることは何が違う

- ¹⁴C 放射性元素
 - 空気中の窒素(陽子7個・中性子7個)に上空の宇宙線により発生した中性子が吸収され、陽子が1個飛び出す。
 $n(\text{中性子}) + {}^{14}\text{N}(\text{窒素原子}) \rightarrow {}^{14}\text{C}(\text{陽子6個・中性子8個}) + {}^1\text{H}(\text{水素原子核=陽子})$
 - → ¹⁴C濃度は大気中では一定
 - 大気中の¹⁴Cと他の同位体(¹²Cや¹³C)との比率はほぼ一定。
¹⁴Cは大気中で二酸化炭素(CO₂)となり光合成により植物に蓄積される。植物が生きている間は¹⁴Cと他の同位体との比率は一定。植物が死ぬと半減期約5730年で¹⁴Cがβ崩壊で減少。(動物も同様)
 - 何年位前に死んだか分かる→埋蔵資源と現役植物との識別

炭素安定同位体比 ^{13}C

炭素を例に取り安定同位体比について簡単に示す。

- 炭素の原子量は12と定義
 - 原子量12と約1%の原子量13の炭素が混在している。
 - 原子量13の炭素の割合はわずかに変化する。
- 炭素安定同位体比は、この変化量を、標準試料PDB(米国南カロライナ州産の箭石:Cephalopoda化石)の安定同位体比からの変化を偏差で表したものであり、千分率偏差(‰:パーミル)で表す
 - 試料Aの炭素安定同位体比($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)を R_A 、標準試料(PDB)Sの炭素安定同位体比を R_S とすると、炭素安定同位体比の偏差 $\delta^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ は、 $[(R_A/R_S)-1] \times 1000$ (‰)となる。

安定同位体比

原子番号	同位体	相対原子質量	存在度 (%)	
1	^1H	1.007825	100	熱分解後 H_2 を測定
	^2H (D)	2.014102	0.015	
6	^{12}C	12.000000	100	酸化して CO_2 として測定 $^{14}\text{C}: 1.2 \cdot 10^{-10}$
	^{13}C	13.003355	1.11	
7	^{14}N	14.003074	100	酸化分解後窒素酸化物を還元して N_2 として測定
	^{15}N	15.000109	0.367	
8	^{16}O	15.994915	100	熱分解後 CO を測定
	^{17}O	16.999131	0.0381	
	^{18}O	17.999159	0.2005	

安定同位体比

原子番号	同位体	相対原子質量	存在度 (%)	
1	^1H	1.007825	100	6670倍
	^2H (D)	2.014102	0.015	
6	^{12}C	12.000000	100	89.9倍
	^{13}C	13.003355	1.11	
7	^{14}N	14.003074	100	272倍
	^{15}N	15.000109	0.367	
8	^{16}O	15.994915	100	499倍
	^{18}O	17.999159	0.2005	

90倍から7000倍の濃度差を同時に高精度で測る
ダイナミックレンジが狭い

安定同位体

- 安定同位体は・自然界に存在する天然の追跡用指標
 - 安定同位体は、生態系の研究や地球科学、資源探査において利用されてきた。
 - 元素の性質を決める「陽子」数は同じだが、「中性子」の数が異なる為、同じ性質なのに質量が異なる原子 → 「同位体」
 - 安定同位体は、一定の割合で存在している。
 - 地球上の生物は、これらの同位体を体内に取り込んだ上で、地球上の物質循環の一部を担っている。
 - 炭素の場合、空気中の炭素は植物の光合成により取り込まれ有機物に変換される。この過程で、炭素は植物の組織を構成する。そして代謝や死後又は捕食されて、再びその元素を別の形態に受け継ぐ。
 - 土壌や大気、水から生物に取り込まれ、生物の組織を構成する分子の一部となり、その後、自然界に戻る一連の過程毎に、安定同位体計測はさまざまな生命活動や生物の履歴を明らかにできる。

植物の炭素同位体比

- 植物の炭素同位体比は、空気中の CO_2 を光合成により植物体内に取り込む際の光合成の回路により決まる。
- 陸上植物の多くはC3植物といわれ、炭素安定同位体比は平均で-27‰(-30~-25‰程度)。(米、麦など)
- サトウキビや、トウモロコシなど乾燥・高温の環境で生育するイネ科植物は、C4植物といわれC3植物と光合成回路が異なる。C4植物の炭素安定同位体比は、平均-12‰(-15~-8‰程度)。
- C3,C4植物以外にC3とC4の中間の値を持つものもある。(CAM植物:パイナップルなど)
- 水生植物は、陸上植物と異なる安定同位体比を持ち、沖合の浮遊プランクトンで-25~-20‰程度、沿岸の付着藻類は、-10‰程度。

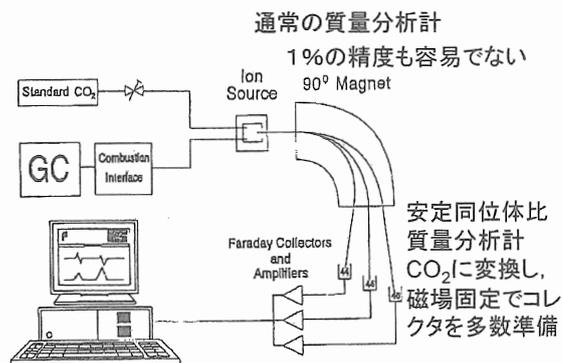
C3植物・C4植物・CAM植物

- C3植物: CO_2 が炭水化物に変換する際に、3原子の炭素を含む3-ホスグリセリン酸を合成する。ほとんどの作物がこのグループに属する。
 - (一般的な多くの)植物=C3植物
 - 光が強い地域・砂漠地帯の植物: 昼間に蒸散すると体内の水分危機になるので、夜の内にC4回路やCAM回路へ二酸化炭素を取り込んでおく性質が備わっている
- C4植物: CO_2 が炭水化物に変換する際に、炭素4原子からなるオキサロ酢酸を生じるので、C4植物と呼ばれる
- CAM植物: C4植物同様に二酸化炭素がオキサロ酢酸に合成される植物
 - ベンケイソウやサボテンなど、乾燥に強い多肉植物に多く見られる
 - C4回路に似たCAM回路を使って夜間に二酸化炭素吸収を行う(乾燥地では、昼間、気孔を開いて二酸化炭素を取り込むことが、過剰な蒸散を引き起こし、生命維持のうえで危険)

安定同位体比の応用例

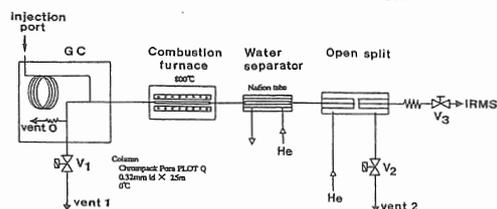
- 有害大気汚染物質の発生源の推定に利用
 - ある大気中の有害大気汚染物質(例えばトルエン)を分析すれば、その発生源が自動車か、工場か、中国からの越境汚染かなど識別できる。
- 2012年 炭素安定同位体比計測による有害大気汚染物質の発生源としての自動車の寄与度推定法の研究, JSAE20125014, No.79-12, p13~p16, 秋山 賢一
- 2010年 有害大気汚染物質発生源推定法の研究 サーマフィッシャーユーザーズフォーラム 秋山 賢一
- 2007年 大気中の有害大気汚染物質の安定同位体比計測による発生源推定法の研究 日本分析化学会, 第286回ガスクロマトグラフィー研究会: 一特別講演会-「地球規模の環境汚染」 秋山 賢一
- 2005年 自動車排出ガスや燃料中の有害大気汚染物質の安定同位体比計測法の検討 自動車研究, Vol.27, NO.6 267-270 浅野 幸子, 秋山 賢一
- 2003年 炭素安定同位体比を指標に用いた都市大気中ベンゼンの起源推定 大気環境学会 年会講演要旨集 角皆 潤, 山口 潤子, 小松 大祐, 中川 春子, 蒲生 俊敬, 秋山 賢一
- 2003年 各種発生源におけるベンゼンの生成機構と炭素安定同位体組成: 炭素同位体組成による有害大気汚染物質の起源推定の可能性 大気環境学会 年会講演要旨集 中川 春子, 山口 潤子, 角皆 潤, 小松 大祐, 蒲生 俊敬, 秋山 賢一
- 他

安定同位体比質量分析計(IRMS)



コンティニューアスフロータイプ 安定同位体比質量分析計(GC/C/IRMS)

炭素の例



GCで分離された物質の炭素は、酸化触媒中で二酸化炭素に酸化され、脱水後オープンスプリットインターフェースを通過してIRMSに導入される

安定同位体比の計測

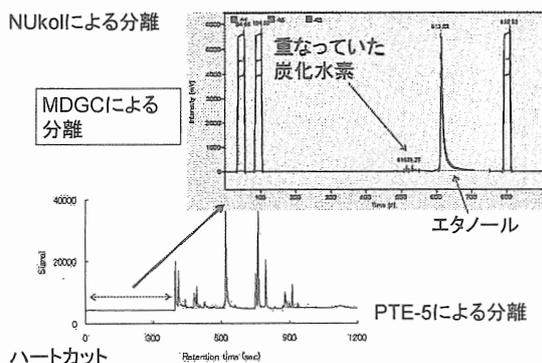
同位体分別を起こさない注入と
100%の分離が必要

構成成分が多い燃料中のエタノールの
安定同位体比質量分析技術



多次元GC分析

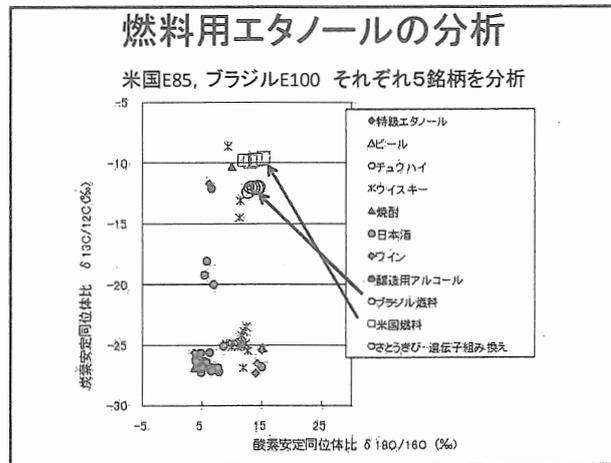
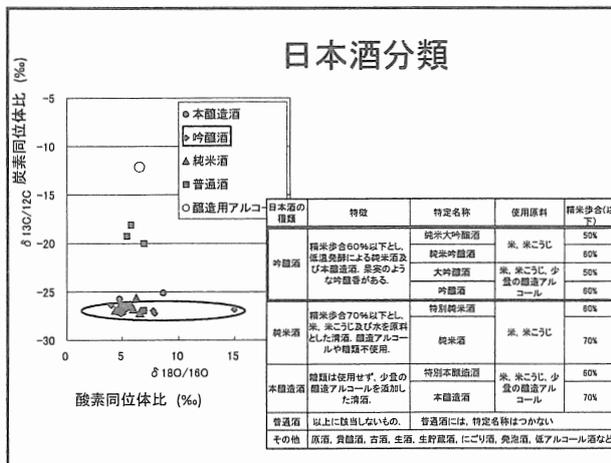
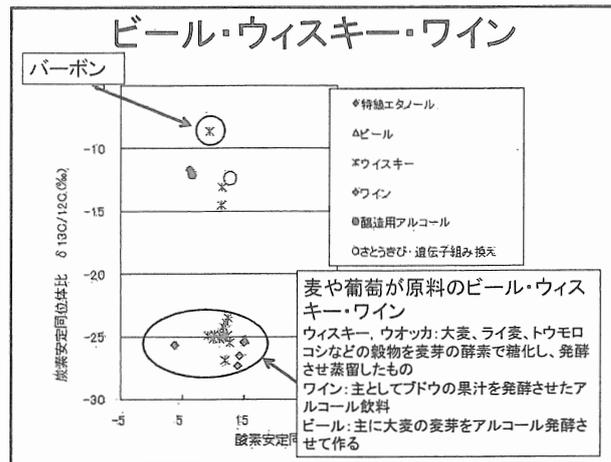
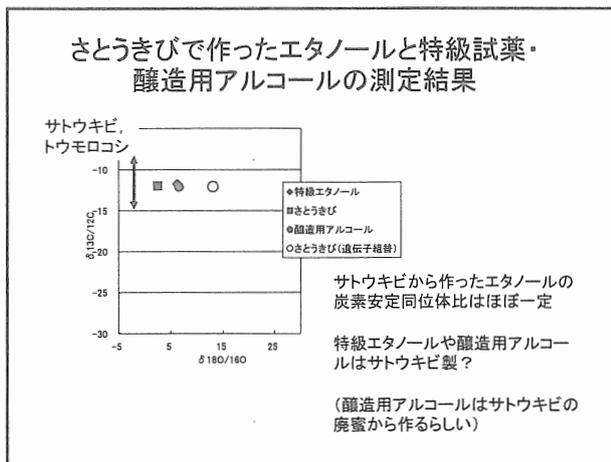
GC/C/IRMSによるE85燃料分析結果



エタノールの分析

どんな植物から作ったエタノールか、
石油から作ったエタノールか？
原料が確かな試料が必要

- まず、手元にある酒から分析
 - ウイスキー, 焼酎, 日本酒, ワイン.....
- 効果があれば
 - 米国のエタノール燃料(とうもろこし)
 - ブラジルのエタノール燃料(サトウキビ)
 - 日本のエタノール燃料



MEMO

A series of horizontal dashed lines for writing.

GC/IRMS の基礎

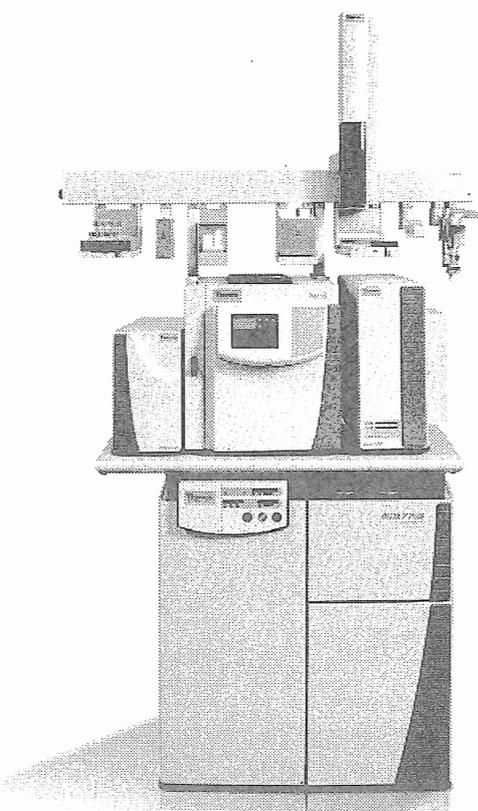
サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

IC & エレメンタル事業部 Inorganic MS 営業部

秋山賢一郎

同位体比質量分析計では、同位体比は元素毎に単純な無機ガス(CO₂・N₂等)の形で測定しています。それは、一つの分子に複数の炭素や窒素などの原子を持つ化合物では、1分子中に含まれる各元素の同位体の種類と数の組合せが膨大となり、そのままでは正確な同位体比測定・算出がほとんど不可能であることによります。そのため、化合物中の元素の同位体比を測定したい場合は、試料に何らかの処理をして無機ガス態に変換し、測定する必要があります。このタイプの IRMS は Gas-IRMS とも呼ばれます。GC/IRMS は、GC を前処理装置として装備した IRMS システムです。

本講演では、GC を主としたヘリウムフロー型前処理装置の歴史と、その基本技術について説明いたします。



弊社製 GC/IRMS システム

ガスクロマトグラフ(GC)や元素分析計(EA)等、ヘリウムキャリアガスによりガス化した試料を搬送する分析装置(ヘリウムフロー型前処理装置)を装備した安定同位体比質量分析システムは現在 Gas-IRMS システムの主流となっており、弊社 IRMS 出荷数の 90%以上を占めています。ヘリウムフロー型前処理装置が実用化されるまでは、複雑な手作業によって試料中の成分を単離して無機ガス化し、それぞれ質量分析計に導入して測定しなければなりません。ヘリウムフロー型前処理装置の登場は、前処理を含めた試料分析に必要な時間の大幅な短縮と飛躍的な省力化・自動化、分析可能な試料形態や応用分野の拡大を実現しました。

現在では GC 前処理装置に代表される成分別同位体比分析(Compound Specific Isotope Analysis, CSIA)は、科学研究目的以外にも食品・飲料・香料等の産地判別・添加物判定の他、ステロイドホルモンによるドーピングの判定(炭素同位

体比)、医薬品の製造者判定(炭素・窒素・酸素・水素・硫黄同位体比)、麻薬・覚醒剤の生産地判定(炭素・窒素・水素同位体比)等、実用分野でも広く活用されています。

質量分析計とヘリウムフロー型分析装置のコンビネーションは、1950年代に有機質量分析分野で始まりました。前処理装置としては元素分析計との接続が先行し、1950年代後半に分離能力の高いキャピラリカラムが登場すると、研究レベルではありますが様々な形でGCとの接続が試みられる様になりました。GCピークの同位体測定に関する体系的アプローチ最も初期の論文は1976年の日本人研究者によるものです※。

商業機としてのIRMS用GC前処理装置は、弊社の前身であるFinniganMAT社によって1988年に世界で初めて発売されました。当初は炭素同位体比測定のみでしたが、1992年に窒素、1996年に酸素、1998年に水素の同位体比測定も可能となり、現在では多元素連続自動分析も可能となっています。なお、IRMS用元素分析計前処理装置も、1985年にFinniganMAT社から世界発の商業機が発売されています。

GC/IRMSは大きく分けて、成分分離を担うGC部、分離された成分毎に測定対象元素を無機態ガスに変換する反応炉、検出器としての同位体比質量分析計によって構成されます。成分分離・無機ガス変換・キャリアガスによる移送等、どの過程でも同位体分別効果は生じるため、試料の同位体比を正確に測定するためには、特に成分分離と無機ガス変換の過程ではほぼ100%の効率が要求されます。

GC部については、十分な成分分離が確保できるのであれば、ヘッドスペース法・SPME法・オンカラムインジェクション法等、ほとんどのGCアプリケーションが応用可能です。

分離された成分を無機ガスに変換する機能を担う反応炉は、分析の性質上、GCカラム流出ガス中の分析対象成分を、リテンションタイムとピーク分離を維持したまま、ほぼ100%の効率で目的とする無機ガス(炭素:CO₂、窒素:N₂、水素:H₂、酸素:CO)に変換できる機能が求められます。このため高変換効率に設計された専用炉はキャピラリ形状となっており、炉内で炭素をCO₂に変換(酸化)する際には酸素はO₂ガス態では供給せず、主として炉内の酸化剤からの酸素放出によって供給されます。窒素については、N₂ガスに直接変換する(弊社製現行GC前処理装置)か、一旦炭素と同様に酸化し、後段のキャピラリ状還元炉でN₂に還元します。水素・酸素の場合は、酸素の導入はせず専用のキャピラリ状熱分解炉でそれぞれH₂・COに変換されます。酸素をCOに変換する際には、成分分子内炭素と、熱分解炉内面にコーティングされた炭素皮膜が利用されます。

※ SANO, M., et al., A new technique for the detection of metabolites labeled by the isotope ¹³C using mass fragmentography, Biomed. Mass Spectr. 3 (1976) 1-3.

<カタログ展示企業一覧>

(五十音順)

アジレント・テクノロジー (株)
エーエムアール (株)
大塚製薬 (株)
関東化学 (株)
ゲステル (株)
サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)
シグマアルドリッチジャパン合同会社
(株) 島津製作所
ジーエルサイエンス (株)
テクノインターナショナル (株)
東京化成工業 (株)
トレイジャンサイエンティフィックジャパン (株)
日本電子 (株)
ピークサイエンティフィックジャパン (株)
LECO ジャパン合同会社

<広告掲載企業一覧>

(掲載順)

関東化学 (株)
ゲステル (株)
サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)
(株) 島津製作所
ジーエルサイエンス (株)
(株) ジェイ・サイエンス・ラボ
大陽日酸 (株)
日本電子 (株)
レステックコーポレーション

Standards for pesticide residue analysis

残留農薬試験用標準品

各種試験法に対応した豊富な品揃え!
GC/MS、LC/MSを使用した一斉試験法に最適!

Foods

食品中の残留農薬分析

ポジティブリスト制度対応

❖ 告示試験法、通知試験法
告示試験法、通知試験法

品揃えが充実した各種標準品

❖ 一斉試験法、個別試験法に対応した混合標準液

各試験法に準拠した混合組成

確立された高い品質保証体制(濃度保証)

豊富な品揃え(GC/MS、LC/MS分析に対応、少包装品の追加)

Water

水質中の残留農薬分析

水質管理目標設定項目

❖ GC/MS及びLC/MSによる一斉試験法に準拠

❖ 新規対象農薬234種+オキソン体を整備(除外農薬類を含む)

Environment

環境中の残留農薬分析

❖ 農薬登録保留基準

❖ POPs廃農薬

❖ ゴルフ場使用農薬

❖ 水質汚濁に係る農薬登録保留基準

ご希望に合せた農薬混合標準液も承っております!



関東化学株式会社 試験事業本部

〒103-0022 東京都中央区日本橋室町2-2-1 (03) 6214-1090

〒541-0048 大阪市中央区瓦町2-5-1 (06) 6231-1672

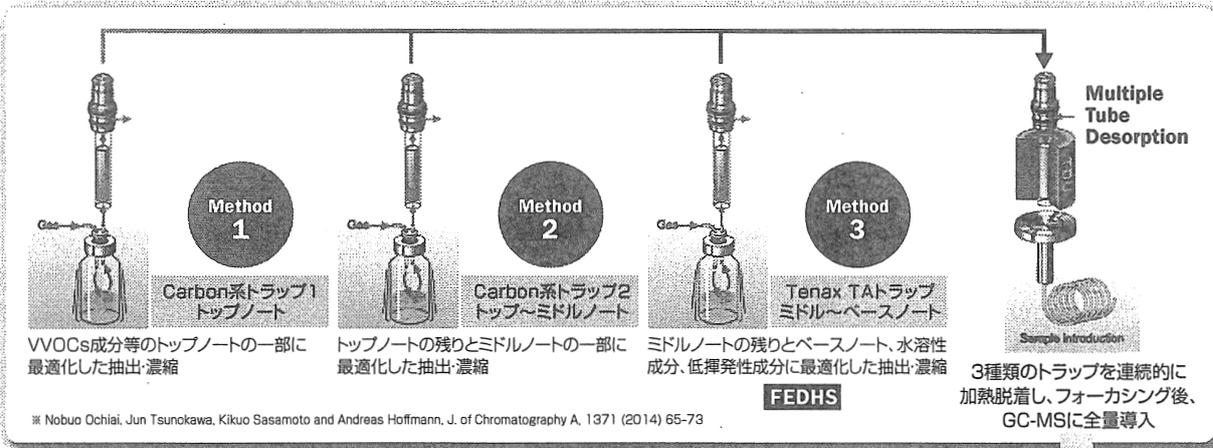
〒812-0007 福岡市博多区東比恵2-22-3 (092) 414-9361

<< <http://www.kanto.co.jp> E-mail: reag-info@gms.kanto.co.jp >>

近日発売予定

MVM Multi-Volatile Method

トップノートからベースノートまでの幅広い成分を網羅的に分析。



※ Nobuo Ochiai, Jun Tsunokawa, Kikuo Sasamoto and Andreas Hoffmann, J. of Chromatography A, 1371 (2014) 65-73

更に進化したDHS法のMVMが、より網羅性の高い検出を実現します!



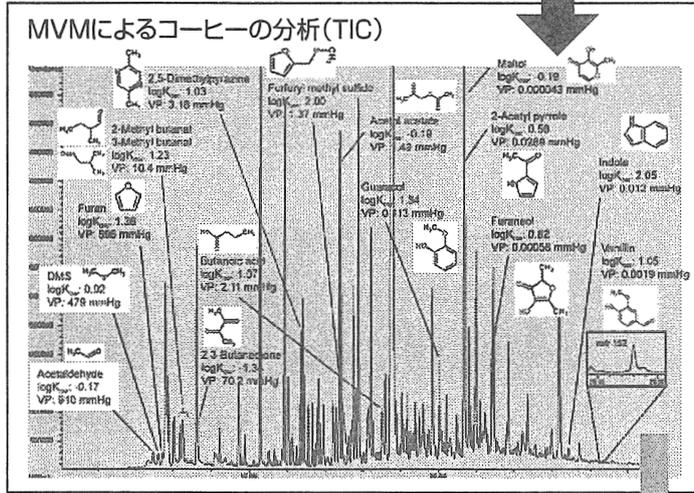
DHSがさらに進化する!

DHS

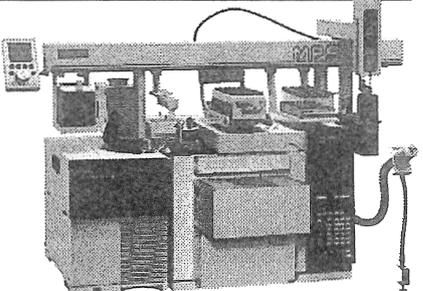
Dynamic HeadSpace

更なる高感度、自動化を実現
ダイナミックヘッドスペースオプション

- 加温されたショートパス、バルブレス
- 高感度
- MPS2による自動化
- 幅広い対象成分
- FEDHS(Full Evaporation DHS)
最大100μLの水系試料をHSバイアル中でパージし強制的に全量を気化。
水溶性成分を含む幅広い成分の回収率が向上します。



Acetaldehyde, DMSなどの揮発性の高い成分からGuaiacol, Indole, Vanillinなどの水溶性が高く、揮発性の低い成分まで多種多様な成分を検出。



ニーズに応える、ゲステルの先進ソリューション。

D or

2D

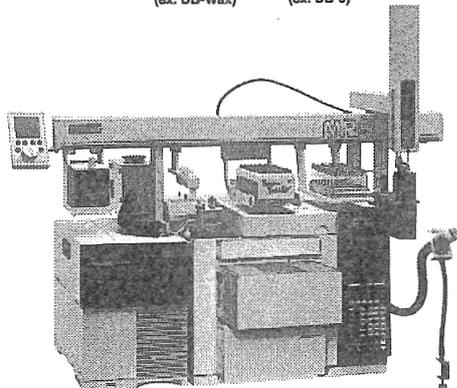
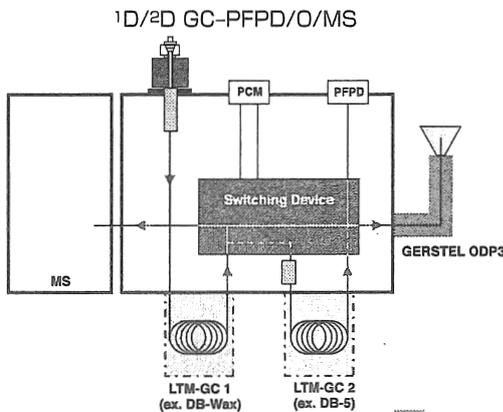
GERSTEL

マトリクスに隠れたにおい成分を2次元GCで分離する (特許登録済み)

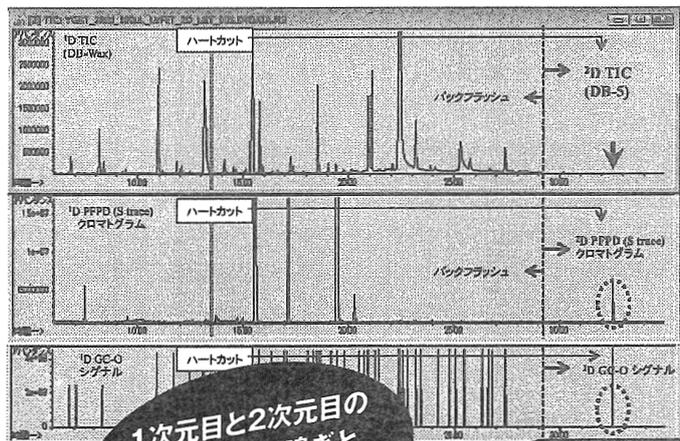
1次元2次元切替GC-MS

- メソッドのみで、1次元GC-MSと2次元GC-MSを切替 (装置構成の変更は一切不要)
- 1次元GC-MS測定直後に2次元GC-MS測定可能 (予備測定は不要)
- 1次元目GCをTICでモニター
- LTM-GC技術による1stカラム、2ndカラムの独立した温度制御 (Host GC 1台)
- 1次元目、2次元目の両方におけるGC-O (Olfactometry)、選択型検出器等とのMS同時検出

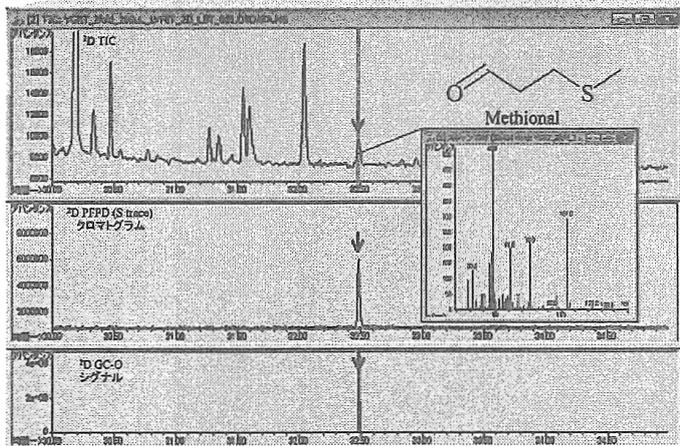
FEDHS-¹D/²D GC-PFPD/O/MS による
ヨーグルト中の香り成分の分析



▲ GERSTEL ¹D/²D切替GC-MSにおい分析システム



1次元目と2次元目の
両方でおい嗅ぎと
MSの同時検出が可能!



GERSTEL DHSを用いたFEDHS (Full Evaporation Dynamic Headspace) と¹D/²DGC-PFPD/O/MSによりヨーグルト中の香り成分を分析。1次元GCでは夾雑成分に埋もれていた微量の含硫黄化合物Methionalを、2次元GCにより分離、同定しました。

ニーズに応える、ゲステルの先進ソリューション。

GERSTEL

ゲステル株式会社 / GERSTEL K.K.

〒152-0031 東京都目黒区中根1-3-1 三井住友銀行都立大学駅前ビル4F

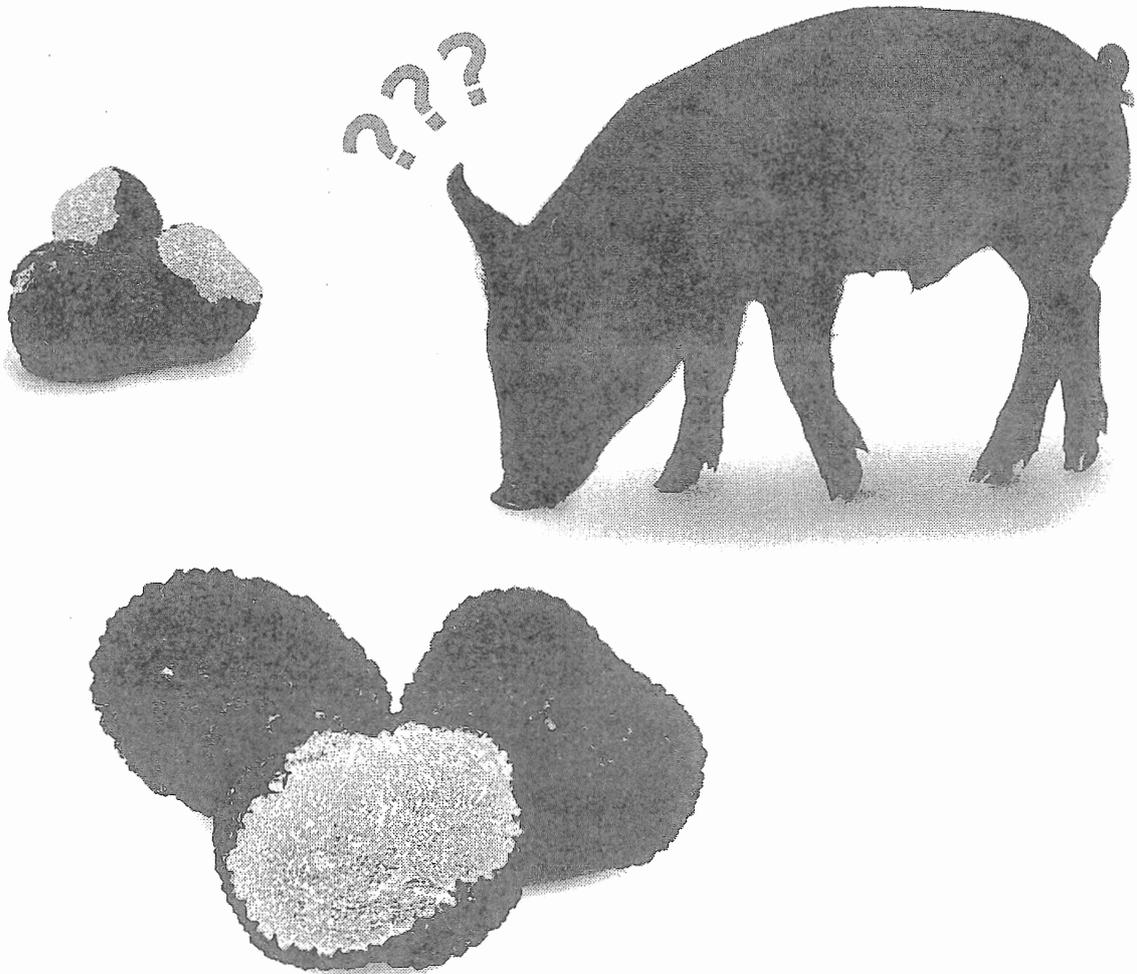
TEL: 03-5731-5321 / Mail: info@gerstel.co.jp

www.gerstel.co.jp

正常品とクレーム品…

あきらかに違うにおいがするのにクロマトグラムでは差が見つからない。そんなお悩みはありませんか？

差異解析ソフトウェア SIEVE がお手伝いします



Thermo
SCIENTIFIC

A Thermo Fisher Scientific Brand

原材料は？ 添加物は？

同位体比質量分析計が何かを教えてくれるかもしれません



サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

TEL.0120-753-670 FAX.0120-753-671
〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町 3-9
Analyze.jp@thermofisher.com www.thermofisher.co.jp

時代は、微量分析ガスクロマトグラフへ

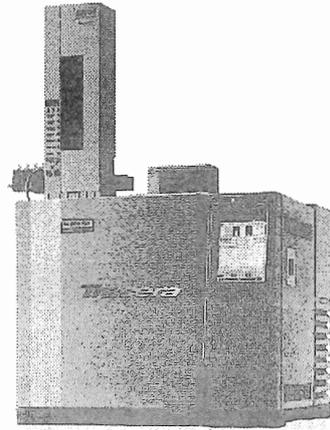
高感度ガスクロマトグラフシステム

Tracera

トレイセラ
Plasma Technology is the Future of GC Detection

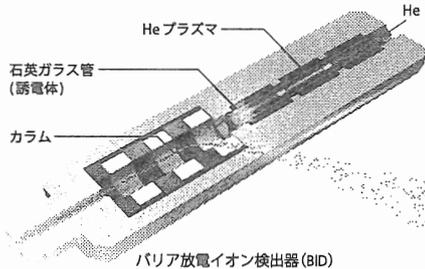
従来のTCD、FIDの汎用検出器では検出が難しかった、サブppmレベルの微量成分の分析。プラズマによる検出技術で、ついに、これが可能になりました。

あらゆる成分を分析できるTraceraは、1台で多くの分析アプリケーションをカバーし、シンプルで高感度な分析を実現します。



微量分析を可視化する革新的なプラズマ技術

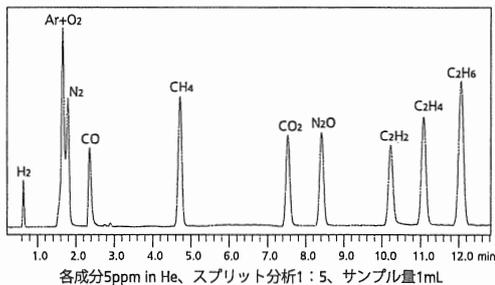
Traceraが搭載するのは、誘電体バリア放電プラズマによるイオン化法を用いたバリア放電イオン化検出器 (BID) です。BIDは、石英ガラス管上に高電圧を与えることでHe (ヘリウム) プラズマを発生させ、続いてカラムから溶出した化合物がHeプラズマからの光エネルギーを受けてイオン化し、これが収集電極により捕集されピークとして出力されます。



High Sensitivity

TCDの100倍以上、FIDの2倍以上の高感度を実現

Traceraが搭載するバリア放電イオン化検出器 (BID) は、ヘリウムプラズマを発生させ、その非常に高いプラズマの光エネルギーにより試料成分をイオン化し、高感度に検出することができます。従来の汎用検出器TCDの100倍以上、FIDの2倍以上という高感度を実現しています。



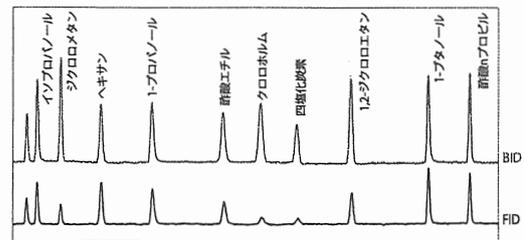
無機ガス、低級炭化水素の高感度分析

従来の分析手法では、複数の検出器 (装置) が必要でしたが、Traceraでは適切な分離カラムを選択することにより、無機ガス、低級炭化水素の混合ガスを高感度に分析することが可能となります。

Novel Universal Detector

汎用検出器では難しかった、あらゆる成分を検出

BIDのヘリウムプラズマは非常に高いエネルギーを持っているため、BIDのプラズマガスであるHeおよび、Heの光エネルギーよりイオン化エネルギーの高いNe以外のすべての有機化合物、無機化合物を感度差少なく検出できます。FIDでは感度が低下するアルデヒド・アルコール・ハロゲン類でも分析感度の向上が図れます。

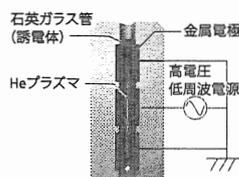


BIDとFIDの感度比較

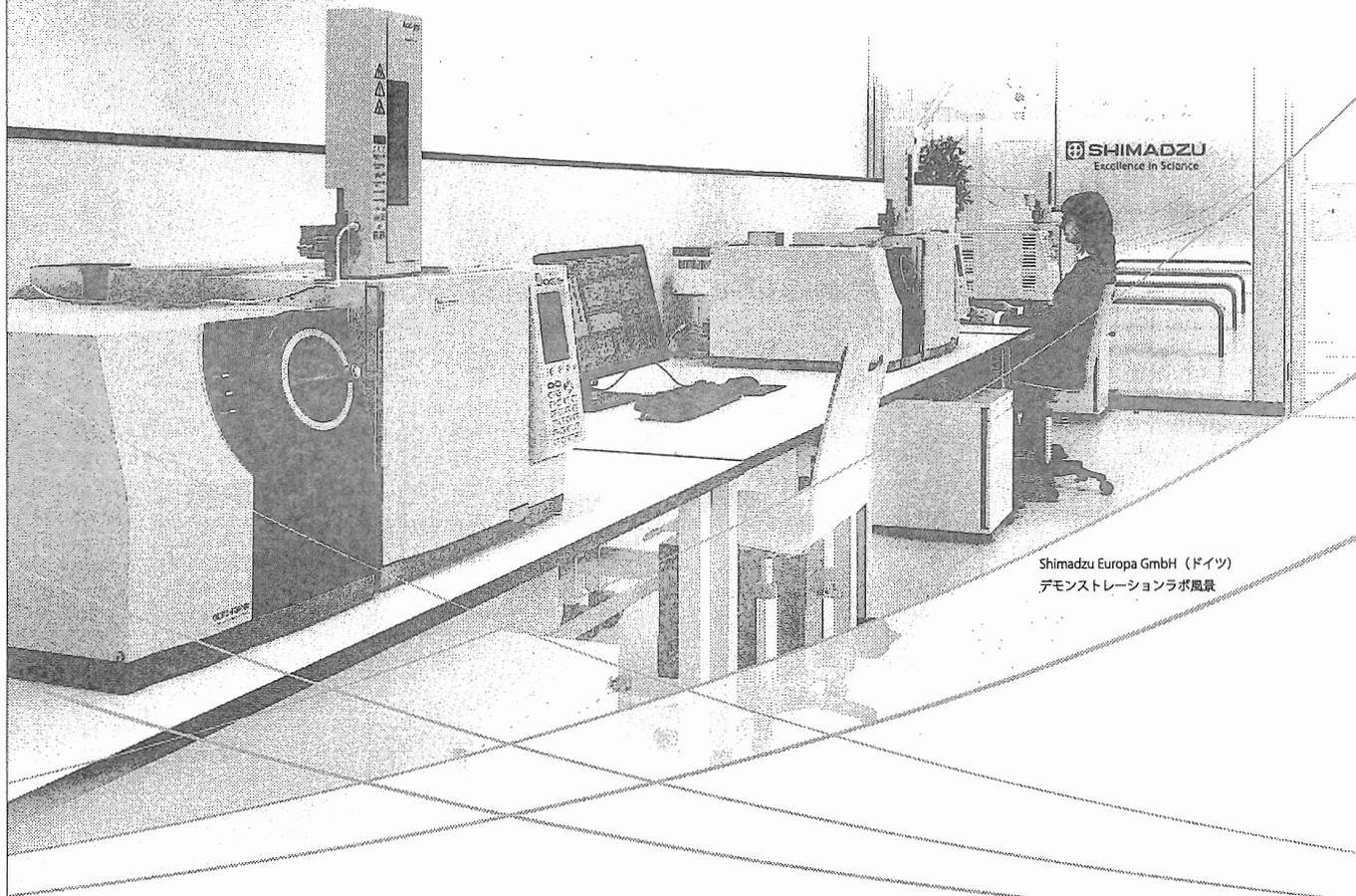
BIDを用いると、FIDで感度が低下するアルデヒド類、アルコール類、ハロゲン類の分析感度の向上を図ることができます。また、化合物間での相対感度差が少ないのも特長です。

Long-Term Stability

電極を守るバリア放電技術により、長期安定性を保持



BIDで採用したバリア放電技術は、プラズマが金属電極に触れない構造です。またプラズマの温度が室温に近い低温であり、BID電極部が高温になりません。そのため、電極の劣化が半永久的に起こらず、長期的に安定した分析が可能です。



Shimadzu Europa GmbH (ドイツ)
デモンストレーションラボ風景

日常の分析を飛躍させるSmart性能

3つのSmart技術が、想像をも遙かに超えるハイパフォーマンスを発揮

優れた生産性を実現する

Smart Productivity

- ※ 新しいファームウェア・プロトコルを搭載
- ※ より多くの化合物を高感度・高精度に一斉分析
- ※ Twin Line MSシステムによりカラム交換作業を軽減

高感度・高速分析を可能にする

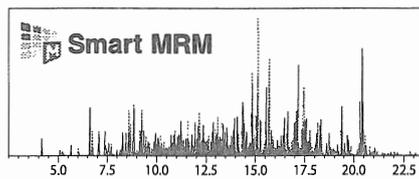
Smart Performance

- ※ 特許技術の高感度イオン源により、更なる高感度化を実現
- ※ OFF-AXISイオン光学系によりノイズを低減
- ※ シングルGC-MSとしても高感度分析可能

メソッド作成をサポートする

Smart Operation

- ※ Smart MRMによる最適なメソッドを自動作成
- ※ 最適なトランジションを自動探索
- ※ AART機能による保持時間自動修正

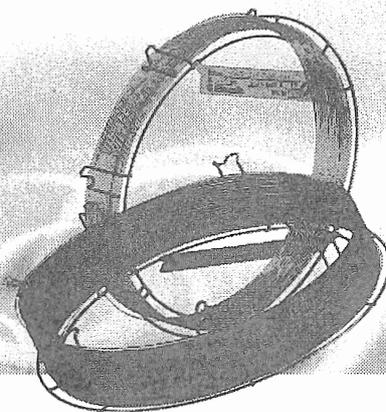


トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計

GCMS-TQ8040

GCキャピラリーカラム InertCap® シリーズ

イナートキャップシリーズは、国内の自社工場で厳格な品質管理のもとに一貫生産される高品質GCキャピラリーカラムです。



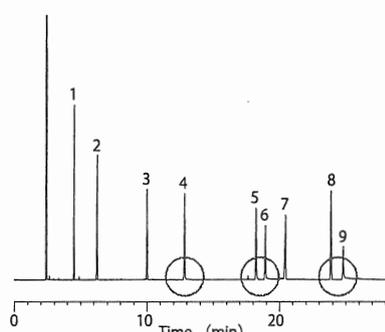
● 高不活性

独自の内面不活性処理技術により、カラム内面に残存する金属、ハロゲン化物、シラノール基を徹底的に排除しているため、極性、塩基性、酸性、金属配位性などの吸着性の高い化合物に対しても、優れたピーク対称性が得られます。

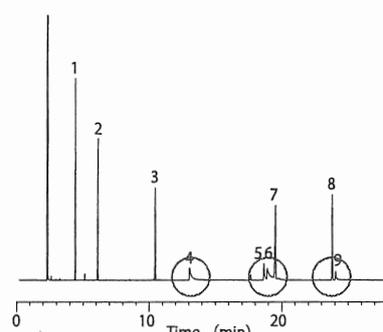
高吸着性サンプルの分析比較

System : GC/FID
Column : 0.25 mm I.D. × 30 m $df=0.25 \mu\text{m}$
Col. Temp. : 60 °C - 4 °C/min - 250 °C
Injection : 250 °C
Detection : 250 °C
Sample Size : 0.1 mg/mL in methanol 0.2 μL

1. *n*-Undecane
2. *n*-Dodecane
3. 4,6-Dimethylpyrimidine
4. 1-Aminooctane
5. *N,N*-Dicyclohexylamine
6. 1-Aminododecane
7. *n*-Heptadecane
8. 2,6-Dimethylaniline
9. 1-Aminododecane



InertCap Pure-WAX



他社WAXカラム

● ローブリード

GC/MS 分析では、S/N 比・検出下限の向上やMS 部汚染を防止する上で、ベースライン上昇の小さいローブリードカラムを選択することが重要です。イナートキャップGC/MS 用カラムは、卓越した重合技術などにより、ブリード量が極めて少ないカラムを実現しています。

● 豊富な種類をラインアップ

イナートキャップシリーズは、無極性から高極性まで様々な液相のカラムを取り揃えており、お客様の分析用途に合わせて選択できるよう準備しています。

※詳しい資料をご希望の方は下記問い合わせ先まで請求してください。資料請求No. GC 0028



ジエールサイエンス株式会社

本社 営業企画部

〒163-1130 東京都新宿区西新宿6丁目22番1号 新宿スクエアタワー30F

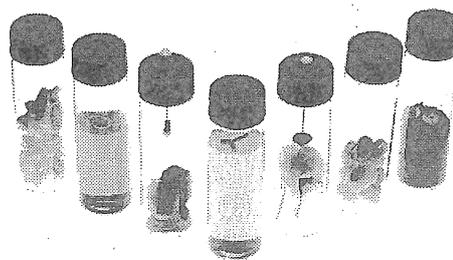
電話03 (5323) 6611 FAX03 (5323) 6622

webページ : <http://www.gls.co.jp/> E-mail: info@glsc.co.jp

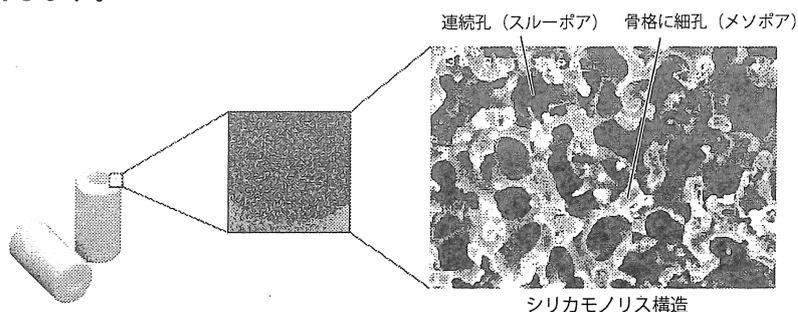
シリカモノリス捕集剤

MonoTrap[®]

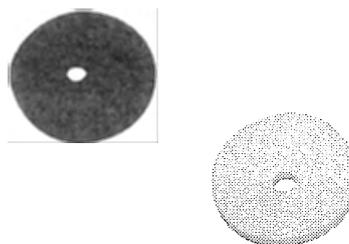
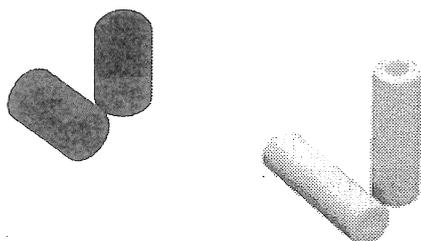
Monolithic Material Sorptive Extraction



MonoTrapは、連続孔（スルーポア）を有するモノリス構造体で、シリカ骨格に細孔を持つ、表面積の大きい高純度シリカゲルです。捕集能力が高く、濃縮分析の常識を変える画期的な捕集剤で、気体・液体を問わずあらゆるサンプルに対応が可能なツールです。このシリカモノリスを使用する濃縮・抽出方法をMMSEと呼びます。



Based on monolithic technology, Merck KGaA, Darmstadt, Germany
(本製品は、Merck KGaA社のモノリス技術を元にし、弊社の技術を組み合わせた製品です。)



開封後すぐに使用可能

MonoTrapは洗浄、コンディショニング済です。低ブランクのため、開封後すぐに使用が可能です。

高い捕集効率

試料負荷量が大きく、溶媒抽出でも充分な測定感度を得ることができます。また、加熱脱着用は、溶媒で希釈されずにGC、GC/MSに導入されるため、さらなる高感度分析が可能です。

高不活性

機窒素化合物、硫黄化合物、ハロゲン化合物など、吸着活性の高い成分も容易に脱離が可能で、幅広い香気成分や悪臭成分のサンプリングにも有効です。

多彩なサンプリング方法

ヘッドスペースガスサンプリング、浸漬・攪拌サンプリング、パッシブサンプリングなど、多彩な方法で使用できます。

※詳しい資料をご希望の方は下記問い合わせ先まで請求してください。資料請求No. GC0026



高性能、信頼の技術

キャピラリーガスクロマトグラフ

GC Labostage

Capillary Gas Chromatograph



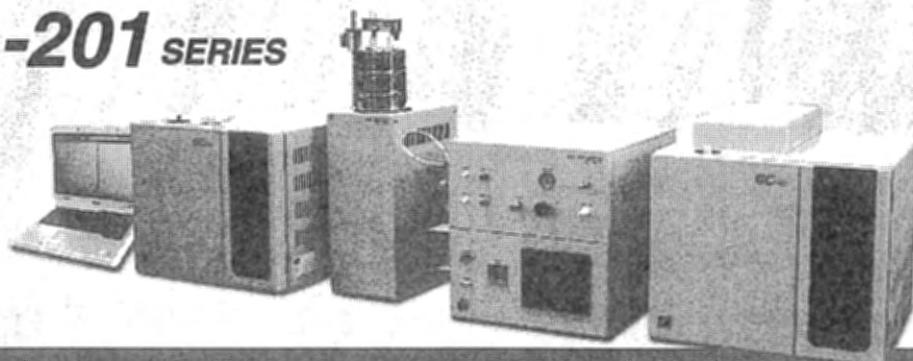
特 徴

- ・冷却性能に優れた高性能カラム恒温槽の設置により生産性の向上
- ・電子流量制御により分析精度が向上
- ・幅広い分析に対応可能(キャピラリーカラム・ワイドボアカラム・バックカラム)
- ・ガスセーバー機能によりランニングコストの大幅な削減
- ・FID検出器には消炎検知機能が標準装備された安心機構
- ・PCから分析条件の設定が可能

コールドトラップ法による自動濃縮システム

悪臭物質自動測定システム

GBA-201 SERIES



特 徴

- ・悪臭防止法（昭和46年6月1日法律第91号、最終改正平成23年3月18日告示）に準拠した測定が行えます。
- ・液体酸素または液体アルゴンを使用したコールドトラップ法による自動濃縮システムです。
- ・手間のかかる濃縮操作からGCによる分析までの一連の操作が全自動で行え、作業効率は格段に向上します。
- ・デジタル積算流量計及びバルブ導入法の採用により優れた再現性を実現しました。
- ・濃縮量や時間の変更はタッチパネルより簡単に行え、あらゆるフィルトで採取された試料に対応できます。
- ・操作性、機能性を重視した設計で、試料のセットや濃縮管の交換は誰でも簡単に行えます。
- ・悪臭物質の分析が簡単でかつ迅速に行え、ルーチン測定に最適なシステムです。



株式会社 ジェイ・サイエンス・ラボ

〒601-8144 京都市南区上烏羽火打形町3番地1 TEL.075-693-9480 FAX.075-693-9490 E-mail mailbox@j-sl.com URL http://www.j-sl.com

●より一層の性能向上のため、予告無く仕様・外観・付属品を変更することがあります。●性能維持のために当社純正部品をご使用下さい。



多成分ガスを同時分析

全自動 ガスクロマトグラフ

AG-1 SERIES

Automatic Gas Chromatograph



特 徴

- ・最大3個の検出器と5系列のカラムシステムの同時装着が可能
- ・ppbレベルからサブppmレベルまでの微量分析にも対応。
- ・水分多量の水エット状態でのガス分析にも最適。
- ・高速カラムシステムによる高速化分析が可能。
- ・表計算ソフトでの日報の作成やCSV形式でのデータ収録も可能。
- ・コンパクト設計で設置スペースも最小。
- ・ユーザー様のご要望により形状を任意に選択。

H₂、COのppbレベルの測定が可能

微量還元性ガス分析計

TRA-1

Trace Reduction Gas Analyzer



特 徴

- ・H₂、COのppbレベルの測定が可能。
- ・自動サンプリングバルブ内蔵で試料前処理装置との連動及び自動測定が可能
- ・フレカット機能内蔵で大気測定も安心(フレカット機能の有無を指定可能)
- ・小型・軽量で設置場所を取らず、移動も容易
- ・電源とキャリアガスのみで測定可能。

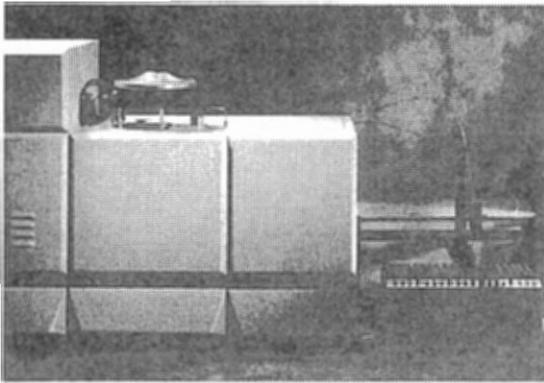


株式会社 ラウンドサイエンス

本社工場 〒601-8144 京都市南区上烏羽火打形町3番地1 TEL.075-693-9990 FAX.075-693-9993 E-mail sys-info@rs-inc.co.jp URL http://www.rs-inc.co.jp
東京事務所 〒113-0034 東京都文京区湯島1丁目11番12-406号シグマエフ内 TEL.03-5805-7767 FAX.03-5800-0877

●より一層の性能向上のため、予告無く仕様・外觀・付属品を変更することがあります ●性能維持のために当社純正部品をご使用下さい。

全自動窒素炭素同位体比質量分析計 (ANCA-GSL)



ANCA-GSLは、生体試料中の ^2H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{34}S の同位体比測定を目的に開発された高精度CONTINUOUS FLOW定磁場型質量分析計です。

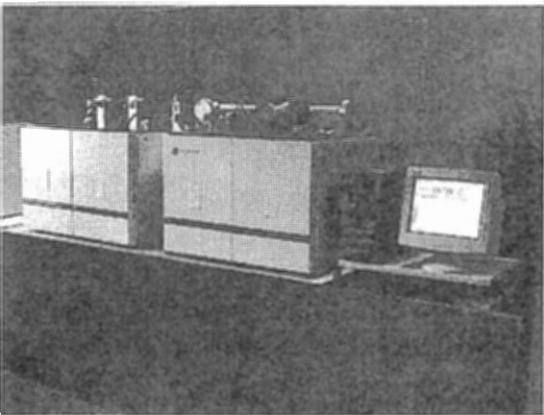
〈特長〉

- CONTINUOUS FLOW方式により高速分析を実現しました。
- トリプルコレクタ付 120° 広角磁場型および真空引き二系列化により高精度分析を可能としました。
- 同一サンプルから ^{13}C 、 ^{15}N の同時分析を高精度で分析可能としました。
- WINDOWS対応全自動分析ソフトを開発しました。

〈仕様〉

- 質量範囲：2~66amu
- 精度(再現性) 0.15‰ (^{13}C) 0.15‰ (^{15}N)

高精度同位体比質量分析計 (GEO20-20)



GEO20-20は、ガスサンプル中の ^2H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 、 ^{34}S などの安定同位体比を高精度、高感度で分析できるDual-Inlet定磁場型質量分析計です。

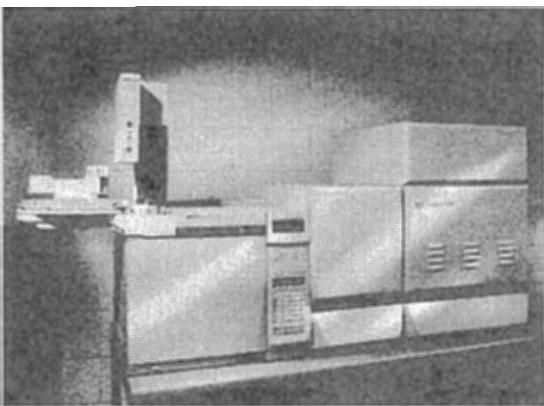
〈特長〉

- DUAL-INLET方式により微量の試料で高精度、高感度分析を可能にしました。
- 独自開発したPenta Blocにより、分析系内のdead volumeを最小限にしました。
- トリプルコレクタ付 120° 広角磁場型および真空引き二系列化により高精度分析を可能としました。
- WINDOWS対応全自動分析ソフトを開発しました。

〈仕様〉

- 質量範囲：2~66amu
- 精度(再現性) 0.15‰ (^2H) 0.01‰ (^{13}C) 0.01‰ (^{15}N)
0.015‰ (^{18}O) 0.015‰ (^{34}S)

ガスクロマトグラフ分離燃焼分析計 (ANCA-ORCHID)



ANCA-ORCHIDは、GCで分離可能な生体サンプルの中の ^{13}C 、 ^{15}N を高精度で測定できる定磁場型質量分析計です。

〈特長〉

- サンプル中の目的構成成分の ^{13}C 、 ^{15}N の同位体比を測定できます。
- 少量サンプルの分析を可能としました。
- WINDOWS対応全自動分析ソフトを開発しました。

〈仕様〉

- 検出限界：0.5ngC 10ngN
- 精度(再現性) 0.2‰ (^{13}C) 0.5‰ (^{15}N)

製造元



総販売元



大陽日酸
The Gas Professionals
大陽日酸株式会社
メディカル事業本部
SI事業部

〒142-8558 東京都品川区小山1-3-26 東洋Bldg.
TEL. 03-5788-8550 FAX. 03-5788-8710

● 資料のご請求は、大陽日酸(株)までお気軽にご用命下さい。
メールアドレス Isotope.TNS@tn.sanso.co.jp
ホームページアドレス <http://stableisotope.tn-sanso.co.jp>

皆様の分析をサポートする JEOLの質量分析計

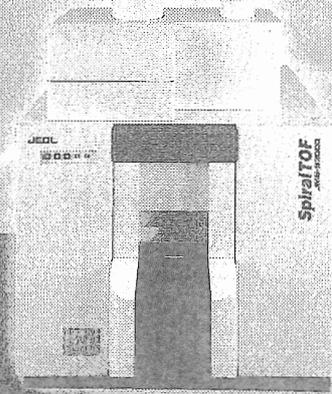


The Only Oneの高い技術

JEOL独自のらせん状イオン軌道を利用した
MALDI-TOFMS

新仕様! R=75,000

SpiralTOF
JMS-S3000



4Gが実現した最強GC-TOFMS

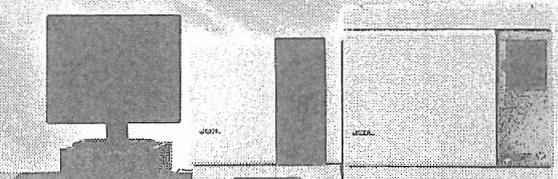
AccuTOF GCv 4G
JMS-T100GCV



NEW

新しい Peak Dependent SIM により
さらに高感度な測定が可能に!

JMS-Q1500GC
Master Quad GC/MS



日本電子株式会社 本社・昭島製作所 東京都昭島市武蔵野3-1-2 TEL(042)543-1111 <http://www.jeol.co.jp/>
 営業企画室 東京都千代田区大手町2-1-1 TEL(03)6262-3560 | 西日本ソリューションセンター 大阪市淀川区西中島5-14-5 TEL(06)6305-0121
 ※東京 電子光学機器営業グループ TEL(03)6262-3581 | 分析機器営業グループ TEL(03)6262-3582 | 産業機器営業部 TEL(03)6262-3570
 半導体機器営業部 TEL(042)528-3491 | 医用機器営業グループ TEL(03)6262-3583
 ※札幌 TEL(011)726-9680 | ※仙台 TEL(022)222-3324 | ※筑波 TEL(029)856-3220 | ※横浜 TEL(045)474-2181 | ※名古屋 TEL(052)581-1406
 ※大阪 TEL(06)6304-3941 | ※広島 TEL(082)221-2500 | ※高松 TEL(087)821-0053 | ※福岡 TEL(092)411-2381

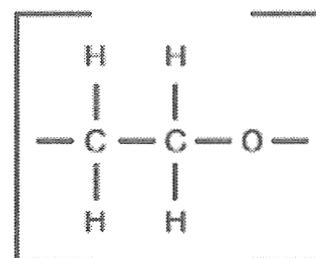
RESTEKの新製品Stabilwax®-MSのご紹介 (スタビリワックスーエムエス)

におい成分, 食品, 香料, 化学工業, 溶剤などのための熱(温度)安定性に優れた高極性GCカラム



Stabilwax®-MSは保持時間の再現性に優れた質量検出器(MS)向けの高極性GCカラムで, 低ブリードを実現でき, 今まで以上に検出限界をより低くできます。分析の対象となる試料は食品, エッセンシャルオイルのような香気成分, におい成分, 化学工業製品に関わる溶剤と同様のアレルギー物質などです。

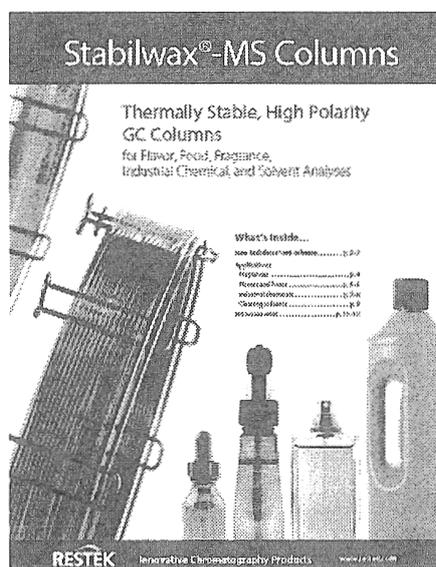
Stabilwax®-MS



- 高極性液相, ポリエチレングリコール(PEG)
- 温度範囲: 40~250/260°C
- 米国薬局方(USP)に適用可能: G14, G15, G16, G20, G39

Cat.#	Length	ID	df
10673	30 m	0.25 mm	0.25 μm
10674	30 m	0.32 mm	0.25 μm

詳細につきましては, 米国本社 of Stabilwax®-MS の小冊子 (GNBR1818-UNV) をご覧ください。



RESTEK®

RESTEK Corporation 日本支社

〒105-0004 東京都港区新橋4-9-1

新橋プラザビル12F 1205号

電話 & FAX 03-6459-0025

email: restekjapan@restek.com

URL: www.restek.com

掲載製品の価格等に関しましては, 販売元・販売店へお問い合わせください。

GC 研究懇談会 運営委員名簿

2014年11月1日現在

No	役員名	氏名	所属名
1	委員長	前田 恒昭	(独) 産業技術総合研究所
2	副委員長	代島 茂樹	アジレント・テクノロジー (株)
3	副委員長	和田 豊仁	(株) 島津製作所
4		秋山 賢一	(一財) 日本自動車研究所
5	書記	安藤 晶	ジーエルサイエンス (株)
6		植田 郁生	山梨大学
7	HP	大川 真	日本電子 (株)
8		大橋 眞	Trajan Scientific and Medicals
9		岡野谷和則	(株) 伊藤園
10	会計	金子 広之	東京化成製造サービス (株)
11		金丸 新	ケイサイエンス株式会社
12	庶務・展示	神田 広興	ゲステル (株)
13		岸本 徹	アサヒビール (株)
14		杉田 和俊	麻布大学
15		瀬戸 康雄	警察庁科学警察研究所
16		園部 淳	(株) エア・リキード・ラボラトリーズ
17		武守 佑典	(株) 島津製作所
18		谷村健太郎	(株) 島津ジーエルシー
19		中釜 達朗	日本大学
20	庶務・記念事業	中里 正光	ジーエルサイエンス (株)
21		中村 貞夫	アジレント・テクノロジー (株)
22		野口 政明	テクノインターナショナル (株)
23		羽田三奈子	サーモフィッシャーサイエンティフィック (株)
24	庶務・展示	藤井 大将	トレイジャン サイエンティフィック ジャパン (株)
25		藤峰 慶徳	大塚製薬 (株)
26		藤本 一馬	(一財) 化学物質評価研究機構
27		古野 正浩	ジーエルサイエンス (株)
28		本田 俊哉	(株) 日立製作所
29	HP	山上 仰	西川計測 (株)
30		鰐川 彰	アサヒビール (株)
31		渡邊 卓朗	(独) 産業技術総合研究所
32	地方委員(東北)	渡辺 忠一	フロンティア・ラボ (株)
33	地方委員 (中部)	津田 孝雄	(有) ピコデバイス
34	地方委員 (関西)	小村 啓	元 (公財) サントリー生命科学財団
35	地方委員 (関西)	佐々野 僚一	(株) アイスティサイエンス
36	地方委員 (関西)	藤村 耕治	信和化工 (株)
37	地方委員 (関西)	古川 雅直	(株) 島津製作所
38	地方委員 (関西)	森川 正己	エスアンドエー・ラボ (株)
39	地方委員 (九州)	門上 希和夫	北九州市立大学
40	地方委員 (九州)	佐藤 博	長崎国際大学
41	最高顧問・信頼性委員長	保母 敏行	東京都立大学大学院
42		齋藤 壽	元 (株) 島津製作所
43	講習会・記念事業	竹内 正博	(有) GC技術研究所
44	顧問・記念事業・アーカイブ	渡辺 征夫	埼玉工業大学 工学部 (非常勤)

「安全・安心な生活と豊かな文化を支えるガスクロマトグラフィー」

(ガスクロマトグラフィー研究懇談会 第334回特別講演会 講演要旨集) 定価 2,000 円

2014年12月1日 初版第1刷

編集兼発行人 公益社団法人 日本分析化学会
発行所 〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2
五反田サンハイツ 304号
公益社団法人 日本分析化学会
電話：03-3490-3351 FAX：03-3490-3572

©2014, The Japan Society for Analytical Chemistry

本研究懇談会のホームページ(<http://www.jsac.or.jp/~gc/menu/solicitation.html>)では、研究会のご案内や入会などに関する情報がご覧いただけます。

