

## 香気分析における省溶媒試料前処理・導入技術と二次元ガスクロマトグラフィー質量分析

従来、煩雑な試料前処理を必要とした香気分析においても、ミニチュア化を伴う省溶媒試料前処理・導入技術の利用が広がっている。また、複雑試料の香気分析では、二次元ガスクロマトグラフィー質量分析(二次元 GC-MS)を必要とする機会が増え、装置の改良が進んでいる。本稿では、濃縮を伴うヘッドスペース法、ミニチュア化抽出デバイスと加熱脱着法、GC-オルファクトメーター法(GC-O)を組み合わせた最新の二次元 GC-MS について解説する。

落 合 伸 夫

### 1 はじめに

香気分析では微量に存在する揮発性成分を対象とするため、古くからガスクロマトグラフィー(GC)が用いられてきた。通常は、試料から香気成分を抽出し、そのごく一部をGCで分析するが、十分な感度を得るためには多くの試料を必要とし、前処理操作には多大な労力と時間が必要となる。そのため、試料前処理のスケールをミニチュア化し、抽出した全量を加熱脱着法によりGCへ導入する手法として、ヘッドスペース(HS)法、固相マイクロ抽出法(SPME)、スターバー抽出法(SBSE)等が普及している。これらの手法では、香気成分の抽出、脱着に有機溶媒を一切使用しない。

GCによる香気分析の特徴として、人間の嗅覚を用いて香気成分を官能的に検出するGC-オルファクトメーター法(GC-O)の利用が挙げられるが、最近ではGC-Oと質量分析計(MS)を組み合わせた同時検出法(GC-O/MS)も広く使われている。しかし、複雑な試料組成を持つ食品中の微量香気成分の分析等では、試料の濃縮率が上がるほど夾雑成分の影響もまた大きくなり、GC-O/MSのみでは検出が難しい場合も多い(分離が不十分なため、GC-O/MSによる保持時間上での質量スペクトル採取が困難となる)。そのため、ハートカット型の二次元GC(GC-GC)とGC-O/MSを組み合わせた手法(GC-GC-O/MS)も利用されている。

本稿では、香気分析において最近注目されている省溶媒試料前処理・導入技術と二次元GC-MS技術について解説するとともに、これらの組み合わせによる応用例についても紹介する。

### 2 省溶媒試料前処理・導入技術

#### 2.1 ヘッドスペース(HS)法

香気分析において従来から用いられている省溶媒の試料前処理・導入技術としてはHS法が挙げられる。HS法では試料から揮発成分のみを気相(HS相)に抽出し、その一部を直接、あるいは濃縮後にGCへ導入するため、不揮発性成分による分析システムの汚染が少ない。HS法は、試料とHS間で目的成分の分配を平衡状態とした後、サンプリングを行う静的HS(SHS)と、HS相あるいは試料相(水系試料)に連続的にパージガスを流し、試料からHSへ目的成分を移行させながらサンプリングを行う動的HS(DHS)に大別される<sup>1)</sup>。SHSとDHSの装置はGCの初期から様々なタイプのものが市販されており、最近では、濃縮を伴うSHS、3軸ロボット型の多機能オートサンプラーによるDHS等が注目されている。SPME、SBSEをHS部で行うHS-SPME、headspace sorptive extraction(HSSE)等も広く利用されているが、これらについては2.2に簡単に記述する。

#### 2.1.1 濃縮を伴うヘッドスペース(HS)-GC

濃縮を伴うHS-GCの歴史は古く、1973年にZlatkisらが吸着剤であるTenax GCを用いたDHSによる生体試料中の揮発性成分の分析を報告している<sup>2)</sup>。香気分析にも1980年代から広く応用され、様々な装置が開発されている。しかし、従来の市販の装置は自動化を行うため、GCまでの試料経路が長く(1m以上)、回転バルブの使用等もあることからコールドスポットが生じやすく、極性成分や揮発性の低い成分の分析が難しい面があった。それゆえ、香気分析においては、DHSのサンプリングをマニュアル操作で行い、GCへの導入を加熱脱着装置で行う方法も根強い。このような背景から、最近3軸ロボット型の多機能オートサンプラーを用いたDHSシステムが開発された<sup>3)</sup>。多機能オートサンプラーのインジェクションユニットはレール上を任意に移

Solvent-less Sample Preparation and Introduction Techniques and Two-dimensional Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Flavor Analysis.

動し、試料バイアルや吸着捕集管を、試料トレイ、DHS モジュール、加熱脱着装置 {昇温気化型 (PTV) 注入口上部に装着} に運ぶ。そのため、マニュアル操作並みに短い試料経路を達成し (約 3 cm)、極性成分や揮発性の低い香気成分への応用が広がっている (応用例は 2・1・2 を参照)。なお、多機能オートサンプラーは通常の液体注入に加え、SPME、シリンジ式 SHS も自動化でき、加熱脱着装置と組み合わせることにより、大量注入 (LVI)、SPME (複数回注入による濃縮も可能)、濃縮を伴う SHS も可能となる。図 1 に 3 軸ロボット型の多機能オートサンプラーを用いた DHS-GC-MS システムの構成を示した。

最近、濃縮を伴う SHS の応用例が増えており、HS ガスを圧力バランス式でサンプリングしながら、あるいはループ式、シリンジ式のサンプリング後に、吸着剤に捕集・濃縮し (複数回可)、GC に全量あるいは低スプリット導入する手法が注目されている。図 2 にコーヒー試料 (60 °C) の HS ガス 1 mL を多機能オートサンプラーのシリンジ式 SHS を用いて、直接 GC-MS にスプリット導入した場合 (a)、加熱脱着装置の PTV 注入口 (Tenax TA ライナー) へ低温濃縮 (-50 °C) した場合 (b)、HS ガス 2.5 mL を 4 回サンプリングし、同装置の PTV 注入口に 10 °C で順次濃縮した場合 (c) の比較

を示した。SHS の試料導入では、1~数 mL 程度の気体試料を操作流量が 1 mL/min 前後のキャピラリーカラムに速やかに導入するため、非濃縮の場合は、通常スプリット導入を行う (a) では、検出感度とピーク幅のバ

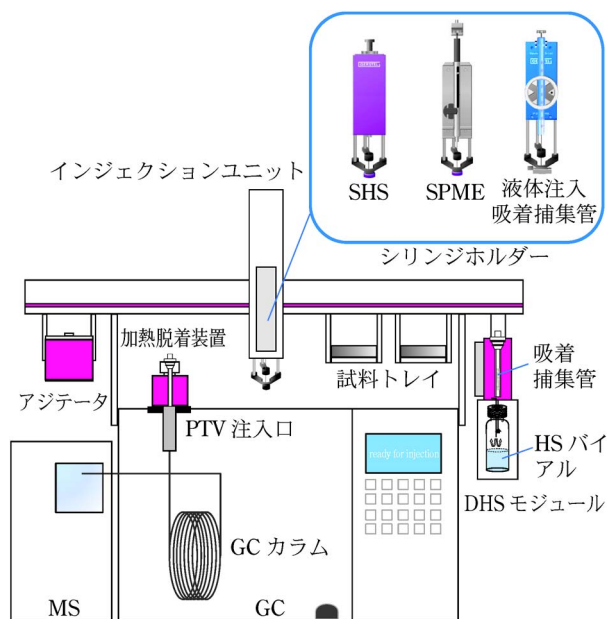
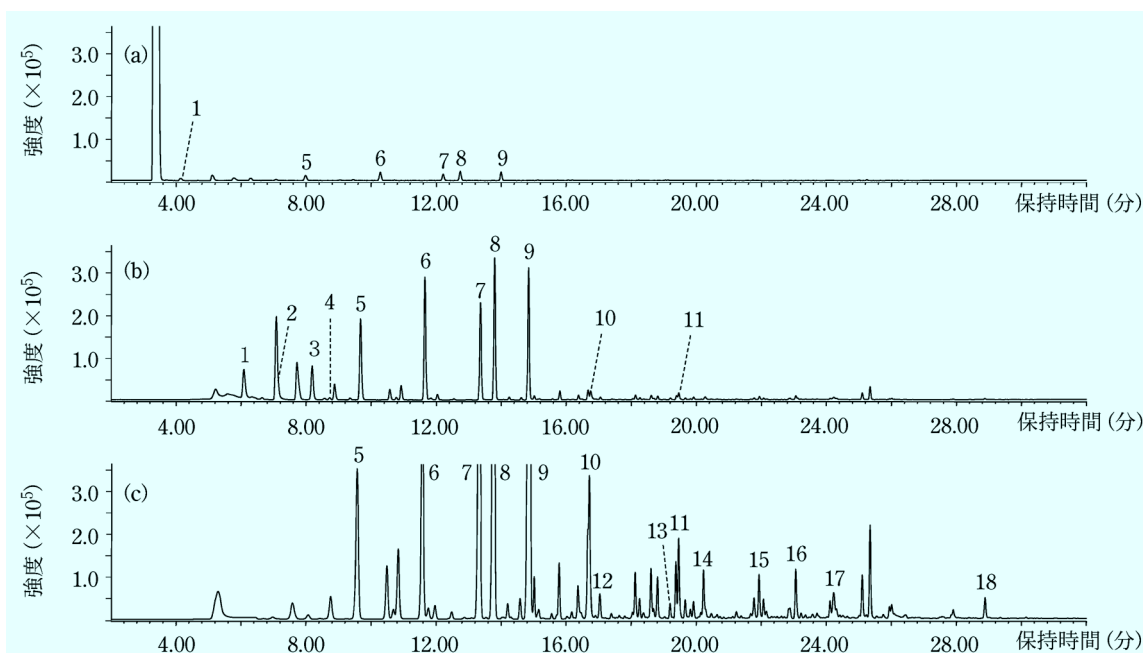


図 1 3 軸ロボット型多機能オートサンプラーを用いた DHS-GC-MS システム



(a) スプリット導入による SHS (非濃縮) (HS ガス : 1 mL, スプリット 1/10), (b) 濃縮を伴う SHS (水分除去無し) (HS ガス : 1 mL, スプリット 1/1), (c) 濃縮を伴う SHS (水分除去有り) (HS ガス : 2.5 mL × 4 回, スプリット 1/1) 試料量 : 10 g (試料重量に対して NaCl 30 % 添加), 試料温度 : 60 °C, 平衡化時間 : 20 分

1 : アセトアルデヒド, 2 : プロパナール, 3 : フラン, 4 : ジメチルスルフィド, 5 : イソブタナール, 6 : 2-メチルフラン, 7 : 2-メチルブタナール, 8 : 3-メチルブタナール, 9 : 2,3-ペンタンジオン, 10 : ピリジン, 11 : フルフラール, 12 : ジメチルジスルフィド, 13 : 4-メチルチアゾール, 14 : フルフリルアルコール, 15 : 2,5-ジメチルピラジン, 16 : 5-メチルフルフラール, 17 : 2-エチル-3-メチルピラジン, 18 : フルフリルメチルジスルフィド

注) (a) スプリット/スプリットレス (S/S) 注入口と, (b), (c) 加熱脱着装置の PTV 注入口では, 試料導入のタイミング, 及び対象成分の移動速度が違うため, 保持時間が異なっている。

図 2 加熱脱着装置の PTV 注入口への濃縮を伴うシリンジ式 SHS-GC-MS によるコーヒーの分析例

ランスを取り、スプリット比は1/10とした)。水分除去を行わずHSガス1 mLを低温濃縮(-50°C)した場合(b)の全イオンクロマトグラム(TIC)では、揮発性の高い炭素数2~5のアルデヒド類、フラン、ジメチルスルフィド等が非濃縮のSHSと比べて10~20倍の強度で検出されているが、揮発性が中程度以降の成分の強度は低い。一方、PTV注入口温度を10°Cとして、水分を完全に除去しながらHSガス2.5 mLを4回濃縮した場合のTICでは、揮発性の高い成分の破過が認められるものの、無極性カラムで炭素数5のアルデヒド以降に溶出するピリジン、フルフラール、フルフリルアルコール、2,5-ジメチルピラジン等の親水性香り成分、および比較的揮発性が低いフルフリルメチルジスルフィドが顕著に検出されている。

### 2.1.2 Full Evaporation Technique (FET) と動的ヘッドスペース (DHS)-GC

1993年にMarkelovらが開発したfull evaporation technique (FET)では、mgレベルの極わずかな試料を100°C付近でサンプリングし、目的成分のほとんどをHSバイアル内で気化させることにより、試料マトリックスの影響を大幅に低減した<sup>4)</sup> [図3(a)]。その結果、従来のSHS、DHSでは難しかったHSに移行しづらい親水性/極性成分についても高い回収率が望めるようになった。しかし、FETの香り分析への応用例はほとんどなく、わずかな例としてZhuらによるパルプ廃

液中の揮発性硫黄化合物の分析<sup>5)</sup>が挙げられる。

2009年になると、Hoffmannらが3軸ロボット型のDHSを用いて、FETによるシャワージェル、石鹸等中の香り成分の分析を報告した<sup>6)</sup>。メタノールに混和したシャワージェル8 µLを10 mLのHSバイアルに入れ、80°Cで500 mLのHSサンプリングを行い、Tenax TAに捕集した後、加熱脱着によりGC-MSへの導入を行った。その結果、無香料品に添加したモデル香り28成分中の25成分について80%以上の回収率が得られ、従来の連続水蒸気蒸留法と比較して、試料中の実際の成分比率に、より近い値が得られている。筆者らは、この手法の条件を最適化し、水系試料100 µLをHSバイアル内で完全に気化させながら、親水性成分を含む香り成分を均一に回収する検討を行った<sup>7)</sup>。図3(b)にFETとDHSを組合せた手法(FEDHS)による水系試料100 µLの測定の流れを示した。

表1にモデル香り12成分(log  $K_{ow}$ : -0.31~3.56)をミネラル水に100 ng/mLで添加した試料1 mLを通常のDHSでサンプリングした場合と同試料100 µLをFEDHSでサンプリングした場合の回収率の比較を示した。室温付近(25°C)でパージ量3 LのHSサンプリングを行った通常のDHSでは、水-オクタノール係数(log  $K_{ow}$ )>2.5の中程度の親水性、あるいはやや疎水性よりの成分は67~95%と良好な回収率が得られたが、log  $K_{ow}$ <2.5の親水性成分は回収率1.7~14%と低い

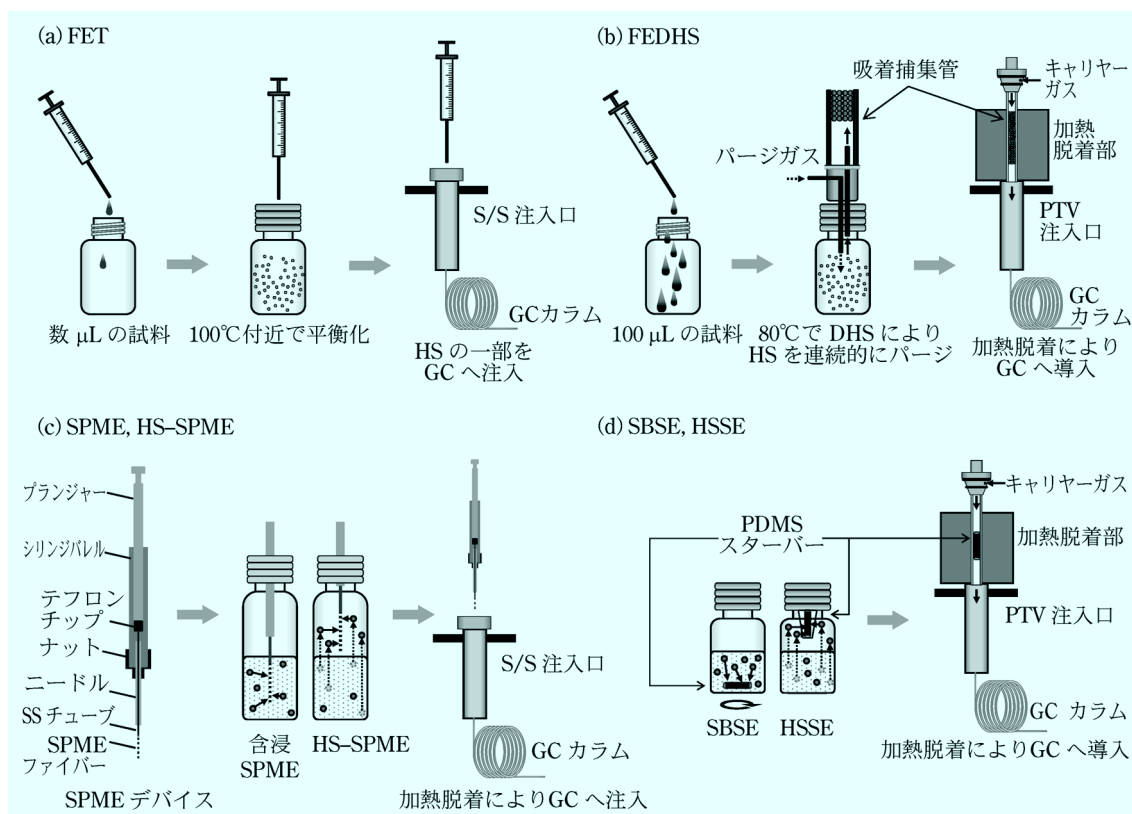


図3 FET(a), FEDHS(b), SPME, HS-SPME(c), SBSE, HSSE(d) の操作フロー

表1 FEDHS-GC-MS (全イオンモニタリング) によるミネラル水 (100  $\mu$ L) 中のモデル香気成分の回収率, 再現性, 直線性, 検出下限値, 及び通常の DHS による回収率

化合物	log $K_{ow}$	DHS		FEDHS		
		回収率 (%) <sup>a</sup>	回収率 (%) <sup>a</sup>	再現性 <sup>a</sup> RSD (%), $n=6$	直線性 $r^2$ (2~1000 ng/mL)	検出下限値 <sup>c</sup> (ng/mL)
$\gamma$ -ブチロラクトン	-0.31	1.7	57	7.0	0.9985 <sup>b</sup>	2.7
2,5-ジメチルピラジン	1.03	19	101	1.1	0.9990	0.22
グアイアコール	1.34	15	99	0.52	0.9989	0.30
フェネチルアルコール	1.57	4.3	97	2.3	0.9945	0.26
インドール	2.05	13	103	0.86	0.9993	0.21
<i>m</i> -クレゾール	2.06	7.8	103	1.0	0.9996 <sup>b</sup>	1.7
$\gamma$ -ノナラクトン	2.08	11	86	3.0	0.9995	0.24
<i>p</i> -シメン-8-オール	2.49	14	84	2.1	0.9992	0.25
フェネチルアセテート	2.57	67	89	1.8	0.9985	0.20
ノナール	3.27	89	84	5.0	0.9931 <sup>b</sup>	5.2
リナロール	3.38	95	84	2.6	0.9986	0.20
シトロネロール	3.56	89	102	3.2	0.9988 <sup>b</sup>	1.2

<sup>a</sup> 添加濃度 100 ng/mL

<sup>b</sup> 検量線範囲 10~1000 ng/mL における 7 点検量線

<sup>c</sup> 検量線の最下点の繰り返し測定 ( $n=6$ ) より算出した標準偏差の 3 倍値 (全イオンモニタリング)

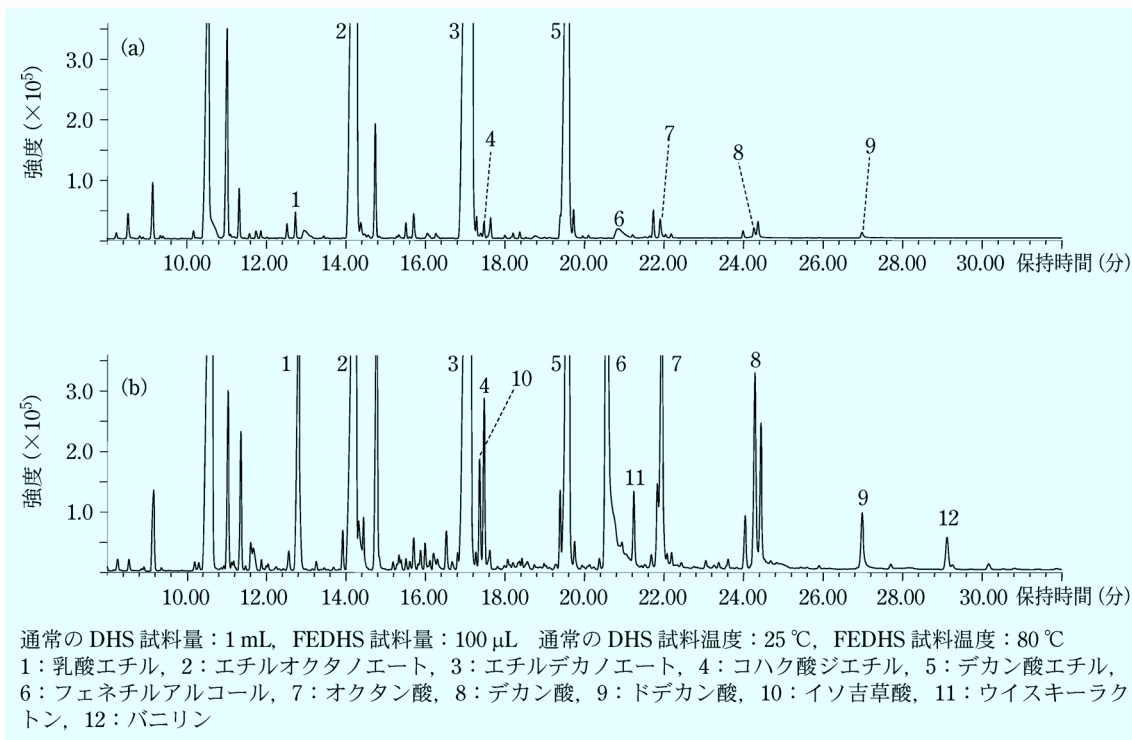


図4 通常の DHS (a) と FEDHS (b) によるシングルモルトウイスキーの全イオンクロマトグラム (TIC) の比較

値となった。一方, 80  $^{\circ}$ C でパージ量 3 L の HS サンプルリングを行った FEDHS では, log  $K_{ow}$  -0.31 の  $\gamma$ -ブチロラクトンを除いた全成分において 84~103 % と良好な回収率を得た。FEDHS による  $\gamma$ -ブチロラクトンの回収率は 57 % であったが, 通常の DHS の回収率の 1.8 % と比較すると格段に高い値であることがわかる。

図4に上記と同一条件の DHS と FEDHS で測定したシングルモルトウイスキーの TIC の比較を示した。

FEDHS の TIC 上には, HS に移行しやすい疎水性のエステル類に加え, 通常の DHS では僅かに検出されているか, 検出されていない親水性香気成分の乳酸エチル, イソ吉草酸, フェネチルアルコール, ウィスキーラクトン, および揮発性も低いバニリンが顕著に検出されている。FEDHS の標準添加法により, バニリンを定量した結果, 添加範囲 2.5~20  $\mu$ g/mL の 5 点検量線の直線性は  $r^2=0.9959$ , 無添加試料の再現性 ( $n=6$ ) は相対標



準偏差 (RSD) 4.2 %, 定量値は 2.7  $\mu\text{g}/\text{mL}$  となった。

岡野谷らは、FEDHS の緑茶の香気分析への応用において、アミノ酸 (テアニン)、糖 (グルコース)、配糖体 (フェニルグルコサイド、ヘプチルグルコサイド) を用いて加熱温度による反応生成物を評価した<sup>8)</sup>。試料温度 80~140  $^{\circ}\text{C}$  の検討において、100  $^{\circ}\text{C}$  以下では反応生成物は検出されず、120  $^{\circ}\text{C}$  からフルフラール、ヒドロキシメチルフルフラール、フェノール等の生成が顕著となり、140  $^{\circ}\text{C}$  では急激に増加し、ピラジン類の生成も認められた。よって、試料温度 80  $^{\circ}\text{C}$  の FEDHS による緑茶の香気分析では、加熱による反応生成物の影響は無視できるレベルであった。

## 2.2 ミニチュア化抽出デバイス

### 2.2.1 ミニチュア化抽出デバイスと加熱脱着-GC

ミニチュア化抽出デバイスと加熱脱着-GC を組み合わせた手法は、抽出と濃縮を兼ねている、抽出した全量を GC に導入できる、操作工程が少ないため試料の汚染や損失が少ない、手法によっては全自動化が可能、など様々な利点がある。1990 年に開発された SPME は、固定相をコーティングしたファイバー状の抽出部を試料溶液に含浸させ、試料溶液と固定相間で分配係数に則った抽出を行う<sup>9)</sup>。SPME ファイバーの固定相体積は、さほど大きくないため ( $\sim 0.5 \mu\text{L}$ )、GC 注入口により十

分な加熱脱着が行える。また、市販の多機能オートサンプラーにより、試料の抽出から GC 注入までを完全に自動化できる。SPME は固定相の種類が豊富であり、分配型のポリジメチルシロキサン (PDMS)、ポリアクリレート等に加え、スチレンジビニルベンゼン (DVB)、カルボキセン (CAR) などの吸着剤を PDMS と組み合わせたものが市販されている。試料バイアル中の HS 部分で抽出する方法は HS-SPME と呼ばれ、試料相、HS 相、固定相の 3 相間で平衡が成り立つ。HS-SPME は、不揮発性成分の影響を受けないため、ファイバーの寿命が比較的長く、多機能オートサンプラーの普及とともに急速に広まっている。図 3 (c) に SPME, HS-SPME の操作フローを示した。

HS-SPME は香気分析への応用が盛んであるが<sup>10)</sup>、固定相の体積が小さいため ( $\sim 0.5 \mu\text{L}$ )、夾雑成分の影響を比較的受けやすく、試料によっては、やや感度が足りない場合もある。そこで、筆者らは多機能オートサンプラーと加熱脱着装置を組み合わせ、複数の試料から連続して HS-SPME を行い、加熱脱着装置の PTV 注入口に順次濃縮する方法を検討した。図 5 に、市販のほうじ茶飲料の HS-SPME-GC-MS による TIC (a)、6 本の試料バイアルから 6 回分の HS-SPME を順次濃縮した後、GC-MS で測定した場合の TIC (b) を示した。6 回分の濃縮で得られた TIC (b) では、ほとんどのピーク

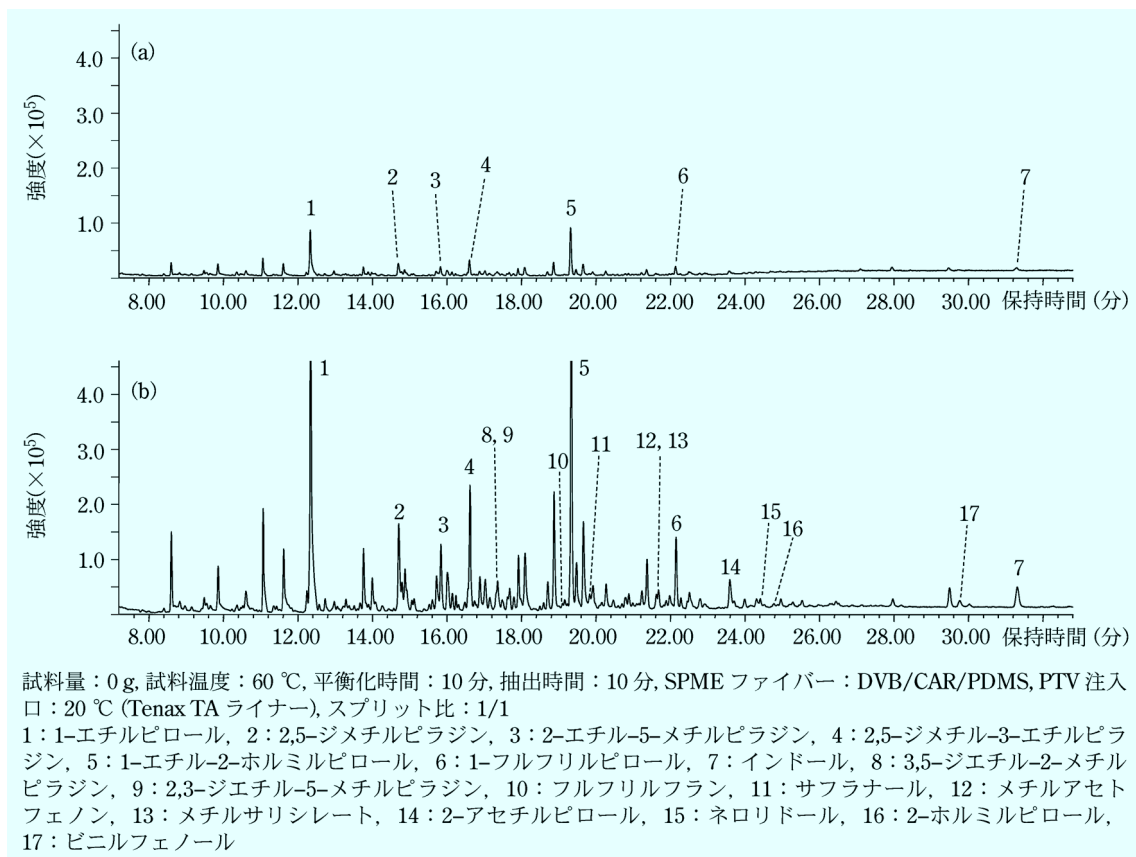


図 5 市販のほうじ茶飲料の HS-SPME-GC-MS における 1 回抽出 (a) と 6 回分濃縮 (b) の比較

の強度が約6倍となり、1回分の濃縮では未検出であったサフラナール、メチルサリシレート、2-アセチルピロール、ネロリドール、2-ホルミルピロール、ビニルフェノール等の10成分以上の香気成分について良好な質量スペクトルが得られた。

1999年になるとSPMEを発展させた手法として、固定相を持つスターバーを試料溶液中で攪拌させて抽出・濃縮を行うSBSEが開発された<sup>11)12)</sup>。SBSEは、SPMEと同様に分配型固定相を仮想溶媒とみなした溶媒抽出の原理を応用しているが、固定相体積を適度に大きくし(24~126 μL)、相対を小さくすることによって分配比を改善し(回収率を向上させ)、より高感度な分析を実現している。PDMSを固定相に用いたSPMEやSBSEでは $\log K_{ow}$ が回収率の目安として利用される。試料溶液体積を10 mL、SBSEで使用するスターバーのPDMS体積を24 μL、SPMEファイバーのPDMS体積を0.5 μLとして、 $\log K_{ow}$ から分配比( $k_{ow}$ )を算出しSBSEとSPMEにおける回収率を予測した結果を図6に示す<sup>12)</sup>。SPMEでは、 $\log K_{ow}$ が3.0の場合、回収率は5%程度しかなく、 $\log K_{ow}$ が4.0の場合でも回収率は35%以下であるが、SBSEでは、 $\log K_{ow}$ が3.0の場合でも70%程度の回収率となり、 $\log K_{ow}$ が4.0の場合、ほぼ100%近い回収率が予測される。実際試料においては、試料マトリックスの影響や、平衡化前の抽出時間のため、予測回収率よりも低い値を示す場合があるが、SBSEの回収率はSPMEよりも格段に高いことが報告されている<sup>11)12)</sup>。

相対の改善は、HS部分で抽出を行うHSSEにも有効であり、プロピルアセテート、ヘキサナール、1-ヘキセン-3-オール、イソアミルアセテート、2-ヘプタノール等を用いたHS-SPMEとの比較では、80~130倍の濃縮率の向上が認められている<sup>13)</sup>。SBSE、HSSEでは固定相体積が大きいため、加熱脱着には十分な脱着流量とフォーカシング機能を持つ装置が必要となる(有機溶媒による脱着も可能)。

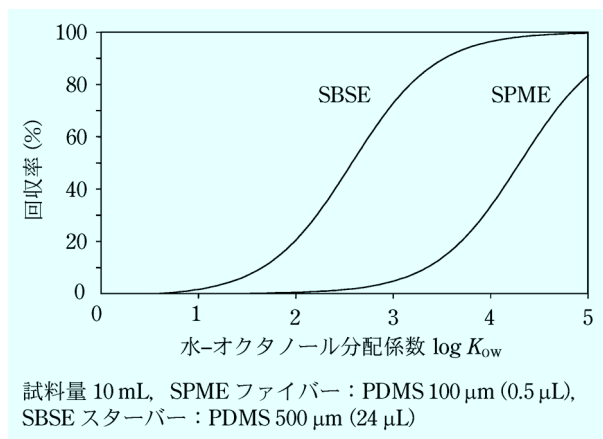


図6  $\log K_{ow}$  による SBSE と SPME の回収率の比較<sup>12)</sup>

SBSEは、現在市販されている固定相が無極性のPDMSのみのため、疎水性成分と比べて親水性成分の回収率が低い傾向があるが、塩析により回収率を向上させることができる。しかし、同時に疎水性の高い成分の回収率が低下する場合があるため、疎水性成分の回収率を低下させることなく、塩析による親水性成分の回収率を向上させる手法として、連続スターバー抽出(sequential SBSE)<sup>14)</sup>が開発された。親水性成分の回収率向上の手段としては、極性基を持つ固定相の開発も行われており、ポリエチレングリコール修飾シリコン(EG silicon)の実用化に向けた試験が行われている<sup>15)16)</sup>。スターバーはバイアルの底で回転しているため、試料量が大きい場合や、バイアルの形状によっては、対象成分が効率的に固定相に接触できないことがある。この場合、疎水性の高い成分がバイアル壁に吸着してしまい、回収率が低下することもある。対象成分をより効率的に固定相に接触させ、平衡化時間を短くするためには、できるだけ相対を小さくすることが重要である。

その他最近注目されているものとして、針型試料前処理デバイス<sup>17)18)</sup>、シリカモノリス捕集剤<sup>19)20)</sup>を用いた手法などがあげられる。前者は、ルーアコック式横穴針内に吸着剤を充填したデバイスに真空ガス採取器等によりHSガスや気体試料を捕集・濃縮し、針部分をガスタイトシリンジに装着後、脱着用不活性ガスを吸引し、GC注入口で加熱脱着導入を行う。後者は、活性炭が含まれたモノリス構造のシリカ骨格表面にオクタデシルシリル(ODS)基を修飾したデバイスにより試料溶液中、あるいはHS部で抽出・濃縮を行い、加熱脱着装置でGCへの導入を行う(溶媒脱着も可能)。

### 3 二次元ガスクロマトグラフィー質量分析

#### 3.1 二次元GCの概要

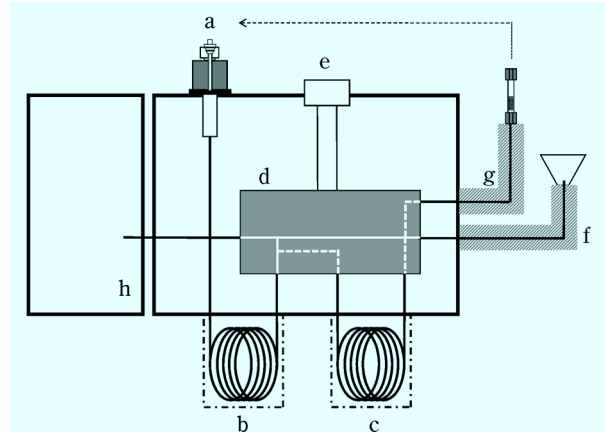
最初のGCで分離した特定成分(分画)を選択的に次のカラムに移し、再び分離する手法をハートカット二次元GC(GC-GC)と呼ぶ。GC-GCはGCの初期から登場し、充填カラムと回転バルブを用いたシステムが無機ガスや低級炭化水素の分析などに利用されていた。その後、Deans式の流路切替方式の開発<sup>21)</sup>、溶融シリカキャピラリーカラムの開発等を経て、キャピラリーGCによるGC-GCが進歩し、1990年代にGCシステムすべてのガスフローを電子的に制御する技術が開発されると、さらなる進化を遂げた。最近のGC-GC装置は、キャリアガスの電子制御やマイクロ流体デバイスを適用しているため、信頼性と操作性が著しく向上しており、ソフトウェアの利用により、分析条件の最適化も容易になっている。二次元GCは、GC技術の進歩と共に現在も進化を続けており、2000年代中頃からは、一次元目のGC全領域にわたって繰り返しハートカット二次元GCを展開する包括的二次元GC(GC×GC)の利用

も広がっている<sup>22)</sup>。

### 3.2 一次元二次元切替 GC-MS と同時検出

GC-GC-MS では、一次元 (<sup>1</sup>D) GC-MS とは別に専用の機器構成が必要となるため、通常は GC-GC-MS 専用機を持つか、1 台の GC-MS の構成を用途に合わせて変更する場合が多い。ダブルオープンシステムの二次元目 GC の注入口に一次元目カラムと同じカラムを装着し、二次元目カラムと一緒に MS に接続する構成も有用であるが、通常の液体注入以外の試料導入には制約がある。また、GC-GC-MS では、通常一次元目の GC は非スペクトル型のモニター検出器 (FID など) によるクロマトグラムしか得られないため、ハートカットを行う部分の質量スペクトルを直接確認することはできない。<sup>1</sup>DGC-MS 測定で得られた目的のピークまたは分画をハートカットするためには、モニター検出器による予備測定を行い、標準物質や、保持指標などから詳細なハートカット時間を決定する必要がある。このような背景から、筆者らは <sup>1</sup>DGC-MS と GC-GC-MS 測定を、装置構成を一切変更することなく、GC-MS 操作ソフトウェアの“メソッド変更のみ”で切り替えることが可能な一次元二次元切替 GC-MS (<sup>1</sup>D/<sup>2</sup>D GC-MS) を開発した<sup>23)</sup>。このシステムでは <sup>1</sup>DGC-MS の全イオンクロマトグラム (TIC) が GC-GC-MS における一次元目ク

ロマトグラムとなるため、一次元目のモニタークロマトグラムからも質量スペクトル情報を得ることができる。<sup>1</sup>D/<sup>2</sup>D 切替 GC-MS システムは試料導入部、low thermal mass (LTM)-GC<sup>24)</sup>を用いた一次元目カラム、二次元目カラム、ハートカットおよび匂い嗅ぎポート (または GC 検出器) と MS の同時検出を制御する流路制御部、圧力制御部、匂い嗅ぎポート (または GC 検出器)、MS から構成される (図 7)。本システムによる <sup>1</sup>DGC-



a: 加熱脱着装置, b: 一次元目 LTM-GC, c: 二次元目 LTM-GC, d: 流路制御部, e: 圧力制御部, f: 匂い嗅ぎポート, g: 加熱脱着用 GC 分取装置, h: MS

図 7 一次元二次元切替 GC-O/MS と GC 分取の構成図

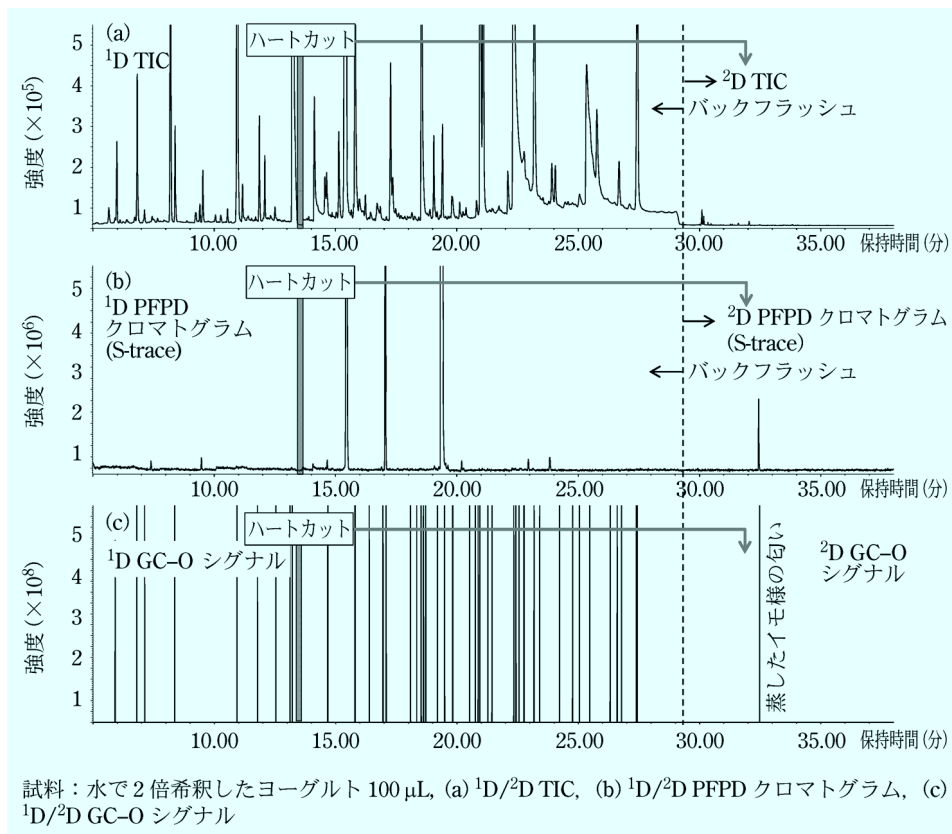


図 8 FEDHS-<sup>1</sup>D/<sup>2</sup>DGC-O/PFPD/MS によるヨーグルト中の香気成分の分析例 (一次元目, 二次元目のクロマトグラムと GC-O シグナル)

MS の測定では、一次元目カラムで分離した成分は、流路切替部を経て、匂い嗅ぎポート(または選択型検出器)と MS により同時検出される。ハートカット時間の設定は、匂い嗅ぎポート(または選択型検出器)由来の保持時間とモニター TIC から行い、メソッド変更のみで、 $^1\text{DGC-MS}$  測定直後に GC-GC-MS による同時検出を行う。

FEDHS と  $^1\text{D}/^2\text{D}$  GC-O/PFPD/MS システムを組み合わせ、ヨーグルト中の香氣成分分析に応用した例を図 8, 9 に示す。一次元目カラムに DB-WAX を用いた測定では、保持時間 13.5 分付近に蒸したイモ様の匂いと PFPD (S モード) のピークを検出したが、TIC からは硫黄を含む単一成分の質量スペクトルは得られなかった。そこで、このピーク付近 (13.40~13.65 分) をハートカットし、二次元目カラムに DB-5 を用いた測定を行ったところ、二次元目の TIC 上には 10 成分以上のピークが検出され、PFPD シグナルと匂い嗅ぎにより、蒸したイモ様の匂いを持つ含硫黄成分を確認した(図 9)。質量スペクトルのライブラリー検索と一次元目、二次元目の保持指標 (RI) からメチオナールの存在が示唆された ( $^1\text{D RI} : 1465, ^2\text{D RI} : 903$ )。本システムでは、同一データ上に一次元目の TIC 及び GC-O/PFPD シグナルと二次元目の TIC 及び GC-O/PFPD シグナルが得られる。図 8 の場合、ハートカットが終了する 29.00 分直後までが一次元目のデータとなり、バツ

クフラッシュ開始 1 分後からが二次元目のデータとなる。FEDHS の標準添加法により、メチオナールを定量した結果、添加範囲 20~100 ng/mL の 5 点検量線の直線性は  $r^2=0.9840$ 、無添加試料の定量値は 11 ng/mL となった。

### 3.3 一次元二次元切替 GC-O/MS と GC 分取

複雑試料中の微量香氣成分の分析では、 $^1\text{D}/^2\text{D}$  GC-O/MS による二次元目の測定において、匂いは検出したものの TIC 上の同一保持時間にピークが検出できないことが度々ある。そこで、目的成分検出のために、試料前処理における濃縮率や試料導入量を増やし過ぎると、試料中の主成分等がキャピラリーカラムの試料負荷量を超えてしまい、分析が困難となる場合がある。そのため、キャピラリー GC による分離後に目的成分を捕集・濃縮するキャピラリー GC 分取が 1980 年代後半から 1990 年代にかけて発展した。Nitz らは、目的に合わせて装置構成を変更可能なモジュール型の多次元 GC システムを用い、二次元 GC による加熱脱着用吸着剤への分取と加熱脱着-GC-O/MS による香氣分析への応用を提案した<sup>25)</sup>。筆者らは、この手法を発展させ、装置構成を一切変更することなく、メソッドの変更のみで、 $^1\text{D}$  GC-O/MS,  $^1\text{D}$  GC 分取, GC-GC-O/MS, GC-GC 分取を行える装置を開発した<sup>26)</sup>。この装置では、 $^1\text{D}/^2\text{D}$  GC-O/MS に加熱脱着装置、二つ目の流路切替部、加

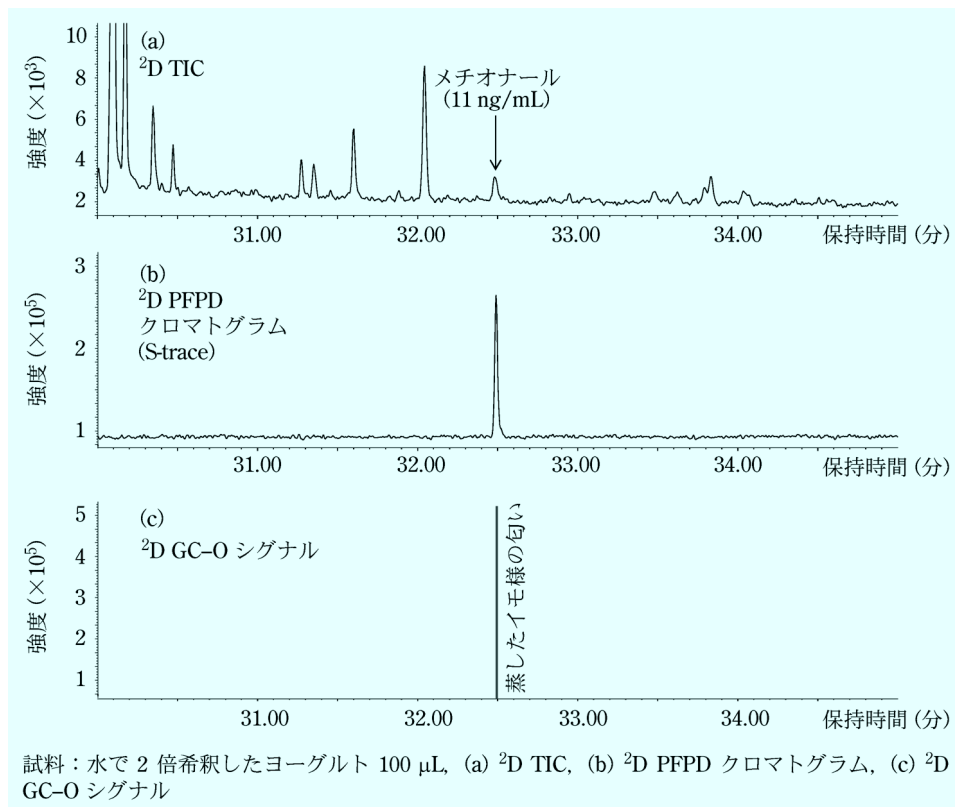


図 9 FEDHS- $^1\text{D}/^2\text{D}$ GC-O/PFPD/MS によるヨーグルト中の香氣成分の分析例 {二次元目クロマトグラムと GC-O シグナル (拡大図)}



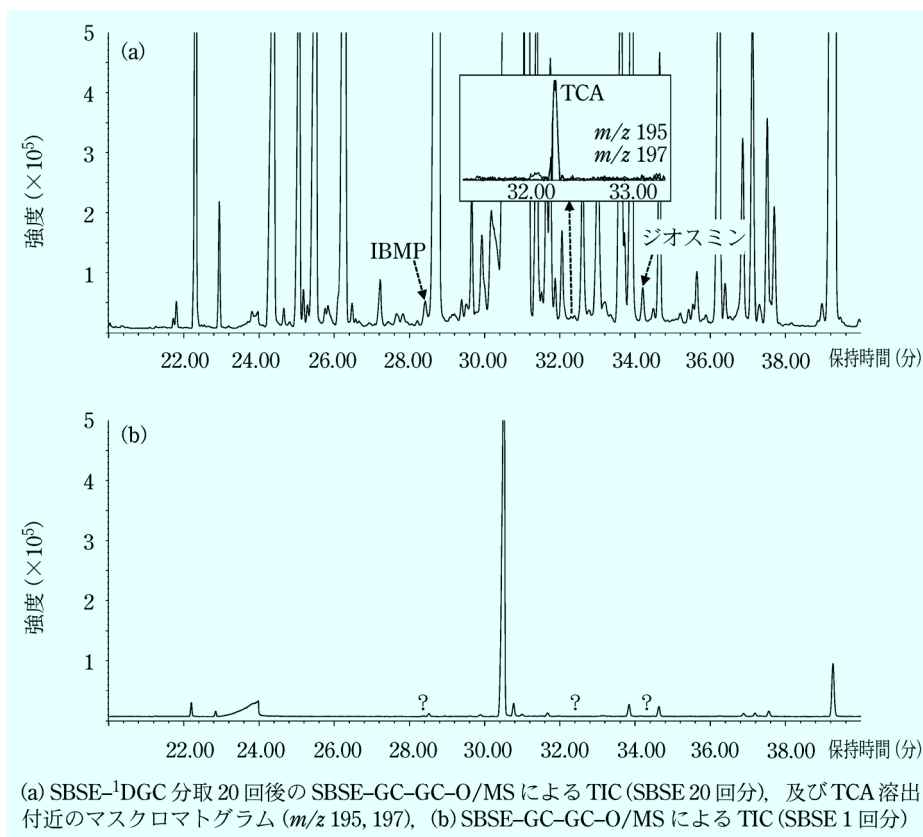


図 10 SBSE- $1D/2DGC-O/MS$  によるオフフレーバー添加ワインの分析

熱脱着用 GC 分取装置を組合せている (図 7)。 $1D$  GC 分取, あるいは GC-GC 分取により, 目的成分を吸着捕集管に繰り返し捕集・濃縮した後は, 同装置の加熱脱着部により試料導入を行い, GC-GC-O/MS の測定を行う。本装置にてモデル香気 15 成分 (500 pg) を Tenax TA 捕集管に 20 回分取したときの回収率は, 98~113 % と良好な結果が得られた (500 pg $\times$ 20=10 ng を回収率 100 % とした)。また, 代表的なオフフレーバー 3 成分 {イソブチルメトキシピラジン (IBMP), 2,4,6-トリクロロアニソール (TCA), ジオスミン} を閾値濃度付近 (5~50 ng/L) で添加した白ワインの分析では, SBSE で抽出した試料 20 回分を  $1D$  GC 分取した後, 加熱脱着-GC-GC-O/MS による測定を行った。その結果, 二次元目の TIC 上に全成分のピークを認め (図 10(a)), 質量スペクトルによるライブラリー検索が可能となった。また, SBSE 回収率と GC 分取回収率から求めた SBSE と GC 分取の効率は 71~78 % となり, SBSE, 加熱脱着, GC 分取, GC-GC-O/MS を組み合わせた手法が ng/L レベルの試料に対し定量的に適用できることを確認した。

#### 4 おわりに

熱不安定成分への適用には制限があるものの, GC と相性の良い加熱脱着法を試料導入に用いることにより, 香気分析においても省溶媒試料前処理・導入技術が普及

している。その背景としては, 操作性に優れたミニチュア化抽出デバイスや汎用性に優れた多機能オートサンプラーと加熱脱着装置などの存在も大きく, 香気分析の効率化と高感度化が進んでいる。また, 従来は専門家に限られていたハートカット二次元 GC-O/MS の利用も裾野が広がっており, これも装置の操作性の向上やソフトウェアによる分析条件検討の簡易化の影響が大きい。

本稿で紹介した手法の原理は古くに確立されたものが多いが, 新たな形状のデバイスや組み合わせる装置の進化により, それ以前では容易に到達できなかったレベルの分析が身近となっている。GC 技術の歩みの中で, SPME, SBSE, 多機能オートサンプラーは, 既に近年のブレイクスルーと認められているが, 筆者個人としては, FEDHS による水系試料中の親水性成分の回収率や  $1D/2D$  GC-MS における匂い嗅ぎ, 選択型検出器との同時検出に, 今までに経験していない喜びを感じている。また, 最近は GC-MS 自体の感度もかなり向上しており, 四重極型 GC-MS では, ほとんどの GC 対象化合物に対して 100 pg 程度の全イオンモニタリングが難なく行え, 近年注目されている GC-飛行時間型 MS (TOF-MS) であれば, さらに一桁以上高感度に測定が可能である。香気分析においては, 目的に合わせた分析法の選択が最も重要であるが, 今回紹介した技術と最新の GC-MS を組み合わせることにより, 新たな世界が開けていくことを期待したい。

謝辞 本稿作成にあたり、ご協力頂きました豊橋技術科学大学 齊戸美弘准教授、ジーエルサイエンス株式会社 安藤 晶氏、ゲステル株式会社 笹本喜久男氏、角川 淳氏、家田曜世氏、石塚雄貴氏に深く感謝致します。

#### 文 献

- 1) B. Kolb : *J. Chromatogr. A*, **842**, 163 (1999).
- 2) A. Zlatkis, H. Lichtenstien, A. Tishbee : *Chromatographia*: **6**, 67 (1973).
- 3) C. Gil, O. Lerch, J. Whitecavage, J. Stuff : GERSTEL AppNote 1/2007, 2007.
- 4) M. Markelov, J. P. Guzowski, Jr. : *Anal. Chim. Acta*, **276**, 235 (1993).
- 5) J. Y. Zhu, X. -S. Chai, X. J. Pan, Q. Luo, J. Li : *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2269 (2002).
- 6) A. Hoffmann, O. Lerch, V. Hudewenz : GERSTEL AppNote 8/2009, 2009.
- 7) N. Ochiai, K. Sasamoto, A. Hoffmann : Abstracts of 35th International Symposium on Capillary Chromatography, P-453-W (2011) San Diego.
- 8) 岡野谷和則, 荒木義晴, 河野高德, 落合伸夫, 笹本喜久男 : 2010 年度茶業技術研究発表会, p. 54 (2010).
- 9) C. L. Arthur, J. Pawliszyn : *Anal. Chem.* **62**, 2145 (1990).
- 10) E. E. Stashenko, J. R. Martinez : *J. Biochem. Biophys. Methods*, **70**, 235 (2007).
- 11) E. Baltussen, P. Sandra, F. David, C. A. Cramers : *J. Microcol. Sep.*, **11**, 737 (1999).
- 12) F. David, P. Sandra : *J. Chromatogr. A*, **1152**, 54 (2007).
- 13) B. Tienpont, F. David, C. Bicch, P. Sandra : *J. Microcol. Sep.*, **12**, 577 (2000).
- 14) N. Ochiai, K. Sasamoto, H. Kanda, E. Pfannkoch : *J. Chromatogr. A*, **1200**, 72 (2008).
- 15) Y. Y. Nie, E. Kleine-Benne : GERSTEL AppNote 3/2011, 2011.
- 16) N. Ochiai : "Flavor, Fragrance, and Odor Analysis, Second Edition", Edited by R. Marsili, p. 12 (2011), (CRC Press).
- 17) Y. Saito, I. Ueta, K. Kotera, M. Ogawa, H. Wada, K. Jinno : *J. Chromatogr. A*, **1106**, 190 (2006).
- 18) I. Ueta, Y. Saito, K. Teraoka, T. Miura, K. Jinno : *Anal. Sci.*, **26**, 569 (2010).
- 19) R. Costa, P. Dugo, G. Dugo, L. Mondello : Abstracts of 34th International Symposium on Capillary Chromatography, p. 168 (2010) Riva del Garda.
- 20) 武田まなみ, 佐藤 睦, 外丸雅彦 : 第 53 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会, p. 196 (2009).
- 21) D. R. Deans : *Chromatographia*, **1**, 18 (1968).
- 22) M. Adahchour, J. Beens, U. A. Th. Brinkman : *J. Chromatogr. A*, **1186**, 67 (2008).
- 23) K. Sasamoto, N. Ochiai : *J. Chromatogr. A*, **1217**, 2903 (2010).
- 24) J. Luong, R. Gras, R. Mustacich, H. Cortes : *J. Chromatogr. Sci.*, **44**, 253 (2006).
- 25) S. Nits, H. Kollmannsberger, F. Drawert : *J. Chromatogr.*, **471**, 173 (1989).
- 26) N. Ochiai, K. Sasamoto : *J. Chromatogr. A*, **1218**, 3180 (2011).



落合伸夫 (Nobuo OCHIAI)  
ゲステル株式会社 (〒152-0031 東京都目黒区中根 1-3-1)。成蹊大学大学院工学研究科工業化学専攻修士課程修了。工学博士。《現在の研究テーマ》GC-MS による微量分析のための試料前処理・導入技術と多次元 GC 技術の開発。《主な著書》“Flavor, Fragrance, and Odor Analysis, Second Edition” (分担執筆) (CRC Press)。《趣味》ギター。

## 新刊紹介

試料分析講座  
元素の分析

社団法人日本分析化学会 編

本書は、元素分析(定性、定量分析)を行う業務に携わる方にぜひお勧めしたい実務書である。元素ごとに総花的に分析法が並べられているのではなく、まず、分析の基本事項(分析値の信頼性など)が述べられ、次に分析手法の基本的な解説が行われ、そして、試料、アプリケーション別に前処理法とそれに応じた様々な分析法の説明がなされる、という構成になっている。分析法の説明も概論的なものではなく、実務に踏み込んだかなり実用的な内容である。さらに、各分析法の原理についても丁寧に解説されており、大学院レベルでの教育にも使える構成と言える。参考文献も充実しており、研究室に一冊は必須ではなからうか。

(ISBN 978-4-621-08451-9・A5判・285ページ・5,900円+税・  
2011年刊・丸善出版)

分析化学用語辞典

社団法人日本分析化学会 編

本書は、分析化学(分析科学)分野の専門用語を適確に使用できるように、過去に出版された「分析化学用語辞典」(産業図書)、「分析化学用語集」(丸善)を踏襲し、そこに新しい用語を補充するとともに、一般的に読みやすい解説文に編集されている。基礎実験や一般的な日常分析の中で用いられる基本的な用語から、最先端研究の領域・分野で使用される新しい用語までを厳選して、約3400語にまとめ収録されている。分析化学の基盤となる技術や汎用性の高い実験器具など、基本的な用語を丁寧に解説することで、分析化学の初心者にも理解できるような構成になっている。そして、英語表記に基づく略語については、巻末にまとめ読者への利便性にも配慮されている。また、各用語には、各見出し語と解説文の間にその用語がどの分野で主に利用されているかが一目瞭然になるよう分類記号が付されている。研究、教育、技術開発など様々な分野で活躍する分析者の方々に必携の一冊である。

(ISBN 978-4-274-21091-4・A5判・451ページ・8,500円+税・  
2011年刊・オーム社)