

第 362 回ガスクロマトグラフィー研究懇談会特別講演会

「豊かで快適な生活を支えるガスクロマトグラフィー」
— 身近なおいを科学する —

2018 年 12 月 5 日 (水)

於：北とぴあ 13F 飛鳥ホール

【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 362 回 ガスクロマトグラフィー研究懇談会特別講演会

主題：「豊かで快適な生活を支えるガスクロマトグラフィー」
— 身近なおいを科学する —

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：2018 年 12 月 5 日 (水) 10:00~19:30

会場：北とびあ 13F 飛鳥ホール (講演・展示)、17F 山海亭 (意見交換会)

(〒144-8503 東京都北区王子 1 丁目 11-1 http://www.kitabunka.or.jp/kitaku_info/rlink/summary-map)

<講演会プログラム>

9:30- 受付開始

10:00-10:05 開会の挨拶 (GC 研究懇談会委員長) 佐藤 博

10:05-10:40 [主題講演 1]

「ビールの香り:その‘構造’を解き明かす ~76 香気成分によるビールの香りの再構築~」

(アサヒビール株式会社) 岸本 徹

10:40-11:25 [主題講演 2]

「茶製造技術開発における GC の利用~香り緑茶の開発~」

(静岡県農林技術研究所) 勝野 剛

11:25-11:55 [技術講演 1]

1. 「DART-MS を用いたリアルタイムフレーバーリリース/レトロネーザル香気成分分析」

(エーエムアール株式会社) 坂倉 幹始

2. 「SPME-GC/MS を用いた食品中オフフレーバー分析の紹介」

(アジレント・テクノロジー株式会社) 姉川 彩

11:55-13:25 昼食

13:25-13:40 [国際学会報告]

「42nd International Symposium on Capillary Chromatography and 15th GCxGC Symposium

~2020 年の国際キャピラリーシンポジウムにみんなで参加しませんか?~」

(アナリティクセンス株式会社) 羽田 三奈子

13:40-14:25 [主題講演 3]

「マンダムの体臭研究の知見と製品の香りについて」

(株式会社マンダム) 澤田 真希

14:25-15:25 [技術講演 2]

3. 「AEI イオン源における異臭成分の定性感度」

(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) 土屋 文彦

4. 「GC-TOFMS を用いた生活の中のさまざまな臭いの網羅的解析」 (LECO ジャパン合同会社) 樺島 文恵

5. 「新規捕集剤ソルブスターを用いた分析事例の紹介」 (アステック株式会社) 中台 遼平

6. 「イオン液体を液相に用いたユニークな GC カラム」 (シグマアルドリッチジャパン) 植田 泰輔

15:25-15:55 休憩

- 15:55-16:40 [主題講演 4]
「食品・農作物の加熱評価としての香気成分分析とメタボローム解析」 (慶應義塾大学) 若山 正隆
- 16:40-17:25 [主題講演 5]
「香りによる柑橘品種の分類」 (山口大学) 赤壁 善彦
- 17:25-17:55 [技術講演 3]
7. 「GC/EI 及び GC/ソフトイオン化法を用いた統合解析手法の開発と応用例」 (日本電子株式会社) 生方 正章
8. 「食品に関わる“におい分析”事例のご紹介」 (株式会社島津製作所) 牧岡 慎吾
- 17:55-18:00 閉会のご挨拶 (GC 研究懇談会委員長) 佐藤 博
- 18:10-19:30 意見交換会 レストラン 山海亭

< 目次 >

〔主題講演 1〕

- 「ビールの香り：その‘構造’を解き明かす ～76 香り成分によるビールの香りの再構築～」
(アサヒビール株式会社) 岸本 徹…1

〔主題講演 2〕

- 「茶製造技術開発における GC の利用～香り緑茶の開発～」 (静岡県農林技術研究所) 勝野 剛…9

〔技術講演 1〕

1. 「DART-MS を用いたリアルタイムフレーバーリリース/レトロネーザル香り成分分析」
(エーエムアール株式会社) 坂倉 幹始…13
2. 「SPME-GC/MS を用いた食品中オフフレーバー分析の紹介」
(アジレント・テクノロジー株式会社) 姉川 彩…19

〔国際学会報告〕

- 「42nd International Symposium on Capillary Chromatography and 15th GCxGC Symposium
～2020 年の国際キャピラリーシンポジウムにみんなで参加しませんか?～」
(アナリティクセンス株式会社) 羽田 三奈子…29

〔主題講演 3〕

- 「マンダムの体臭研究の知見と製品の香りについて」 (株式会社マンダム) 澤田 真希…31

〔技術講演 2〕

3. 「AEI イオン源における異臭成分の定性感度」
(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) 土屋 文彦…37
4. 「GC-TOFMS を用いた生活の中のさまざまな臭いの網羅的解析」
(LECO ジャパン合同会社) 樺島 文恵…43
5. 「新規捕集剤ソルブスター用いた分析事例の紹介」 (アステック株式会社) 中台 遼平…49
6. 「イオン液体を液相に用いたユニークな GC カラム」 (シグマアルドリッチジャパン) 植田 泰輔…53

〔主題講演 4〕

- 「食品・農作物の加熱評価としての香り成分分析とメタボローム解析」 (慶應義塾大学) 若山 正隆…63

〔主題講演 5〕

- 「香りによる柑橘品種の分類」 (山口大学) 赤壁 善彦…67

〔技術講演 3〕

7. 「GC/EI 及び GC/ソフトイオン化法を用いた統合解析手法の開発と応用例」
(日本電子株式会社) 生方 正章…71
8. 「食品に関わる“におい分析”事例のご紹介」 (株式会社島津製作所) 牧岡 慎吾…75

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

「ビールの香り：その‘構造’を解き明かす

～76 香気成分によるビールの香りの再構築～」

(アサヒビール株式会社) 岸本 徹

主題講演 2

「茶製造技術開発における GC の利用～香り緑茶の開発～」

(静岡県農林技術研究所) 勝野 剛

ビールの香り：その‘構造’を解き明かす ～76 香気成分によるビールの香りの再構築～

アサヒビール株式会社 酒類技術研究所 岸本 徹

なぜ、香りの分析が必要なのか？

飲料や食品のメーカーに関わらず、製造メーカーには「お客様に多種多様な商品をスピーディに提供する」、「高い品質の商品を提供する」ということが求められる。高い品質の商品を大量に製造するためには商品の品質（食品メーカーであれば、香りや味、おいしさ）を分析値で表し、その分析値を製造工程にて管理していく必要がある。また、お客様に多種多様な商品をスピーディに提供するためには、商品の設計図をスピーディに作成せねばならない。香りや味、おいしさに寄与する成分を明らかにし、分析値で表現できるようになれば、多種多様な香りや味を容易にコントロールすることができ、お客様からのニーズや期待、市場の変化に速やかに応えることができる。このような背景から、あらゆる食品や飲料の香りに関する研究が精力的に進められている。

ビールの香味に寄与する香気成分

ビールは、水、麦芽、ホップを主な原料とし、酵母による発酵を経てつくられる。そのため原料に直接由来する香り、アミノ酸や脂肪酸、糖から発酵を経て作られる香りなど、様々な香気成分が含まれ⁽¹⁾、現在までに 660 以上もの成分が報告されている⁽²⁾。

このような香りの研究の中で特に着目されるのは「特徴に寄与する成分」であり、「高濃度で含まれる成分」ではない。香気成分には「閾値（＝匂いを識別できる濃度）」が存在し、ppm（＝mg/L）レベルで匂いを感ぜない物質も存在すれば、ppt（＝ng/L：50 m プールに目薬 1 滴程度）で匂いを識別できる物質も存在する。寄与度を評価するためには、主に Odor Activity Value（OAV：濃度÷閾値）を算出し、ビール中に閾値の何倍の濃度で含まれるかを評価する手法^(3,4,5)や、ヒトの鼻を検出器とする匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー（GC-olfactometry：GC-O）を用いて鼻元に届く香気強度を評価する手法^(6,7)が多く用いられる。

ビールの香味に寄与する成分を調べるため、1975 年に Meilgaard は 239 もの成分の閾値を調査し（香気成分・呈味成分含む）、ビールに寄与する成分の同定を試みている⁽⁸⁾。寄与する成分として、新鮮なビールではエタノール、ホップ苦味物質、炭酸ガス、および発酵で生成するバナナ様のエステル、リンゴ様エステル、フーゼルアルコールが、劣化したビールにおいては dimethylsulfide（海苔様香気）、hydrogen sulfide（硫化水素臭）、diacetyl（バター様）、(E)-2-nonenal（ダンボール紙様）といったビールの美味しさを損なう物質が香味に寄与していると述べている⁽⁸⁾。Fritsch らはピルスナービー

ル（ドイツ産）を GC-0 を用いて解析した結果を報告している⁽⁹⁾。GC-0 解析での強度が高い 26 成分について定量し、またそれら香気成分の水中での閾値を求め、OAV を算出したところエタノール、アセトアルデヒド、そして蜂蜜様香気を呈する damascenone、華様の linalool、甘いフルーティな香りを呈する ethyl butanoate, ethyl 2-methylpropanoate, ethyl 4-methylpentanoate の寄与 (OAV) が高かったことを報告している。

さらにその他、ビールに特徴を与えるためにホップを用いて様々な香りが付与される。世界中には 100 以上もの品種のホップが存在し、著者らも各品種やホップの使用方法がビールに特徴的な香りを付与することを報告してきた^(10,11,12,13,14)。近年の総説⁽¹⁵⁾においてはホップの香りに関する 160 以上もの報告が引用されている。

上記のようにビールの香りに関する研究では OAV が高い香気成分（寄与度が高い香気成分）に着目されてきた。一方で、ビール中で大多数を占める寄与度が小さい香気成分群の役割については、ほとんど考察されて来なかった。筆者らは、GC-0 分析から同定した総計 76 成分のビール中での濃度を正確に定量し（表 1）、その 76 香気成分を用いてビール香気の再構築を試み、各香気成分がどのようにしてビールの香りの構造を完成させているかについて考察した^(16,17)。そこで得られた結果について紹介する。なお詳細な手法や化合物に関する情報については、原著論文⁽¹⁶⁾をご参照いただきたい。

ビールの香りの解析と化合物による再構築

1. GC-0 分析：香気の抽出と分析操作

市販のピルスナービールを対照ビールとした。対照ビール 1 L から 500 ml のジクロロメタンを用いて香気を抽出し、さらに回収したジクロロメタン層を Solvent-Assisted Flavor Evaporation (SAFE) 装置^(5,18)を用いて蒸留し不揮発性成分を除いた。無水硫酸ナトリウムにて脱水処理を行った後、低沸点香気を損失しないように Kuderna-Danish evaporative concentrator を用いてジクロロメタン層を 1 ml まで濃縮した（この抽出液を以下 Extract P と呼ぶ）。

2. 高 OAV 香気 25 成分による再構築

上記の Extract P の GC-0 解析においては 65 の香気を検出し 56 成分を同定した。そのうち GC-0 解析における強度が高い 38 成分をスクリーニングし、これらの香気成分について寄与度を精査するために、対照ビールを用いてビール中での閾値を測定し OAV を算出した。その結果、9 成分のみの OAV が 1.0 以上（閾値以上の濃度）であった（表 1）。

さらにこの GC-0 解析における強度が高い 38 成分がビール香気の香味に単独で寄与しているか否かを確認した。具体的な方法としては、対照のビールにこの 38 成分をそれぞれ単独で添加し、対照ビールと比較する 3 点識別法を用いて寄与を確認した。その結果 OAV が 1.0 以上の 9 成分の中でもさらに 6

成分のみ (isoamyl acetate, 3-methyl-1-butanol, 2-phenylethyl alcohol, γ -nonalactone, furaneol, sotolon) が 3 点識別法にて有意, つまりビールの香味に単独で寄与していたが, 残りの 32 成分は有意な寄与を示さなかった⁽¹⁶⁾.

上記 38 成分のうち, OAV が高い 25 成分 (OAV=3.58~0.35) を Group A (表 1) とした. 0.20 MPa の CO₂ と 40.9 g/L のエタノールを含む水溶液に, Group A の香気成分をビール中に含まれる濃度と同じ濃度で添加し, ビール香気の再構築を試み, 官能評価にて特徴を評価した. Group A は最も寄与度が高い 25 成分であることからビールの香りに近い再構成液が完成すると期待されたが, Group A による再構成液はビールに不可欠な「麦芽/穀物」「エステル」の特徴, および「香りの総量」を著しく欠き (図 1-①), 一方で 3-methyl-1-butanol, methionol, phenylethyl alcohol に由来する「フーゼルアルコール」の香りが著しく突出し, 非常にバランスが悪い香調を呈していた (図 1-①). そして対照ビールを 100% としたビール香気との類似度を評価したところ, この Group A の 25 成分による再構成液の類似度は極めて低かった. パネリストによる評価平均値およびのディスカッションの結果, この 25 成分による再構成液の類似度を 30% と定めた (図 2). その後の再構成液の官能評価においては, この Group A (=30%) と, 対照ビール (=100%) をマーカーとして類似度を評価した.

3. 「麦芽/穀物」の特徴に寄与する成分の探索

25 成分 (Group A) による再構成液において, 著しく欠損していた「麦芽/穀物」の香気を補うため, この特徴に寄与する成分を探索した. まず上記の Extract P の調製に用いた手法と同様の手法で 2.5 L のビールから香気を抽出し 10 mL まで濃縮した (この抽出液を以下 Extract Q と記す). Extract Q を, アミノプロピル基によって修飾されたシリカゲルカラムと, ジクロロメタン/メタノールの混合比を振った溶媒を用いて分画した. 分画した結果, 「穀物, ナッツ, アーモンド, ややゴボウ様」の香気を有する画分, また「カラメル, 焦げた砂糖, 甘い香り」の特徴を有する画分が存在した. この 2 つの画分を GC-0 を用いて解析し, これらの画分の特徴香に寄与していると思われた 44 の香気を同定した. この 44 香気成分のうち 20 成分は既に Group A に含まれたことから, 残りの 24 成分 (表 1: Group B とする) を上記の再構成液に追加し, Group A + B の合計 49 成分から成る再構成液を作成した. Group B を添加することにより特徴が改善されると期待されたが, 官能評価の結果, 49 成分による再構成液 (Group A + B) の特徴は全く改善されず (図 1-②), また類似度も同様に全く改善されなかった (図 2).

この Group B の 24 成分についても, 単独でビールの香味に寄与しているか否かを上記と同様に 3 点識別法を用いて確認した. その結果, Group B の 24 成分はいずれも有意に識別されず, 単独での有意な寄与がないことを確認した⁽¹⁶⁾.

4. 単独ではビールの香味に寄与しないその他の香気

上記 Extract P と Extract Q の分画物には、多くの香気成分が重複して含まれていた。これらの GC-0 解析結果においては、総計 76 香気成分を同定した (表 1) ⁽¹⁶⁾。

76 成分のうち 49 成分は既に上記の Group A または Group B に含まれる。残りの 27 成分は、GC-0 解析における強度が弱くビールの香りも想起させない香気成分であるが、それらを Group C (表 1) とし、その寄与を評価した。Group C の各々の香気成分を単独でビールに添加し 3 点識別法によって寄与を確認した。その結果、Group C の香気成分はいずれも有意に識別されず、単独での有意な寄与がないことを確認した ⁽¹⁶⁾。そして Group A+B の合計 49 成分による再構成液に Group C の香気成分を添加し、総計 76 香気成分 (Group A+B+C) による再構成液を作成した。官能評価によってその特徴を評価したところ、香気の特徴は大幅に改善し (図 1-④)、対照ビールと比較した類似度も大幅に上昇した (図 2)。

Group C (27 成分) の寄与をさらに詳しく調べるため Group A (25 成分) に Group C を加えた合計 52 成分 (Group A+C) による再構成液を作成し評価した。しかしながら官能評価の結果、その特徴は改善せずに (図 1-③)、類似度も全く向上しなかった (図 2)。

以上のように、Group B (24 成分) のみ、または Group C (27 成分) のみの添加では、Group A (25 成分) 再構成液のバランスの悪い特徴を改善できず、Group B と C の両方がビール香気構築に欠かせないことが明らかになった。単独では香味に寄与しない 50 種以上の成分 (閾値以下の成分、ビールの香りを想起させない香気成分を含む) の相乗的な寄与が、Group A の突出した香りと釣り合いながらバランスをとることによって、ビールの香りの‘構造’を完成させていると考えられた。

今後、より正確な商品の香りやおいしさの設計図を作成していくために、このような単独では特徴に寄与しない多数の香気成分に着目していく必要がある。そのためには精度高く網羅的に定量する仕組みや、これらの寄与を統計的な手法を用いながら管理していくことが益々必要になっていくと思われる。

表 1. ビール香気の再構築に用いた 76 香気成分⁽¹⁶⁾

リテンション インデックス (DB-WAX)	GC-O にて検出された香調	同定された化合物	濃度 ($\mu\text{g/L}$)	弁別閾値 (ビール中) ($\mu\text{g/L}$)	Group
891	パイナップル	ethyl acetate	15300	21000	A
915	ポテト, アーモンド	3-methylbutanal	4.9	9.6	A
1111	バナナ	isoamyl acetate	1230	724	A
1215	フーゼルアルコール	3-methyl-1-butanol	59600	16800	A
1235	甘い, フルーティ	ethyl hexanoate	119.2	163.0	A
1296	ナッツ, マッシュルーム	1-octen-3-one	0.0066	0.0026	A
1317	ナッツ, チアミン	2-methyl-3-furanthiol	0.075	0.190	A
1379	金属, 生魚	(Z)-1,5-octadien-3-one	0.00014	0.00040	A
1440	エステル, フルーティ	ethyl octanoate	159.5	290.0	A
1453	ポテト, 醤油	methional	1.2	1.8	A
1537	カードボード	(E)-2-nonenal	0.082	0.100	A
1546	フローラル	(R)-linalool	1.2	1.0	A
1640	調理玉ねぎ	2-sulfanyl-3-methyl-1-butanol	0.27	0.29	A
1676	チーズ, 腐敗	3-methylbutanoic acid	454.9	1230.0	A
1710	フーゼルアルコール, 醤油	methionol	822	1397	A
1730	フルーティ, キャッティ	3-sulfanylhexyl acetate	0.0047	0.0050	A
1825	ストロベリー, はちみつ	(E)- β -damascenone	1.8	2.5	A
1847	フルーティ, キャッティ	3-sulfanyl-1-hexanol	0.044	0.055	A
1854	フローラル, バラ	geraniol	2.7	7.0	A
1910	フーゼルアルコール, フローラル	2-phenylethyl alcohol	27669	7739	A
2035	甘い, 桃, ミルク	γ -nonalactone	33.7	11.2	A
2040	カラメル, 甘酸味	furaneol	290.6	112.0	A
2195	カラメル, 焦げた砂糖	sotolon	1.50	0.54	A
2210	フェノール, スモーク, 甘い	4-vinylguaiacol	116.6	98.0	A
2228	グレープ	2-aminoacetophenone	2.4	5.0	A
910	ポテト, アーモンド	2-methylbutanal	1.7	-	B
1105	コゲ, スカンク	3-methyl-2-butene-1-thiol	0.0029	0.0070	B
1338	穀物, シリアル	2-acetyl-1-pyrroline	0.54	3.00	B
1411	ナッツ, 土様	2,3,5-trimethylpyrazine	0.24	-	B
1438	ゴム	2-sulfanylethyl acetate	2.3	6.3	B
1465	パン, アーモンド, 甘い	furfural	20.4	-	B
1470	土様, ナッツ	2-ethyl-3,5(6)-dimethylpyrazine	0.25	-	B
1530	アーモンド, 焦げた砂糖	benzaldehyde	1.6	-	B
1615	ロースト, 焦げた香り	benzyl mercaptan	0.0061	-	B
1724	ココナツ, ミルク	γ -hexalactone	22.6	-	B
1830	カラメル, 焦げた砂糖	cyclotene	20.4	-	B

1864	スモーク, 甘い香り, フェノール	guaiacol	3.0	65.0	B
1897	キノコ, シナモン	ethyl 3-phenylpropionate	1.6	5.0	B
1925	ココナツ, 甘い香り	γ -octalactone	3.7	-	B
1981	カラメル	maltol	1243	-	B
2090	カラメル, 焦げた砂糖	homofuraneol	11.4	68.0	B
2135	キノコ, シナモン	ethyl cinnamate	0.93	2.40	B
2263	カラメル, 焦げた砂糖	maple furanone	0.13	-	B
2380	スモーク, 甘い香り, フェノール	4-vinylphenol	78.9	-	B
2444	防虫剤, 糞	indole	0.72	-	B
2490	防虫剤, 糞	3-methylindole	0.054	-	B
2585	バニラ, ココナツ	vanillin	3.0	48.0	B
2630	キノコ, シナモン	3-phenylpropionic acid	20.2	-	B
2978	ラズベリー	raspberry ketone	5.0	21.2	B
952	フルーティ, リンゴ	ethyl propionate	96.2	-	C
965	柑橘, リンゴ-like	ethyl 2-methylpropanoate	0.91	6.30	C
970	バター	2,3-butanedione	13.0	-	C
1036	フルーティ, リンゴ	ethyl butanoate	73.1	367.0	C
1052	バター	2,3-pentanedione	5.0	-	C
1055	フルーティ, パイナップル	ethyl 2-methylbutanoate	0.21	1.10	C
1065	柑橘, パイナップル	ethyl 3-methylbutanoate	0.41	2.00	C
1090	草, グリーン	hexanal	6.2	-	C
1097	甘い香り, カビ様	2-methyl-1-propanol	12400	-	C
1198	フルーティ, リンゴ	ethyl 4-methylpentanoate	0.14	1.00	C
1391	S系, キャベツ	dimethyl trisulfide	0.00012	0.01600	C
1498	フレッシュな, オレンジ	decanal	1.5	-	C
1503	フレッシュな, きゅうり, 揚げ物	(E,E)-2,4-heptadienal	2.7	-	C
1590	きゅうり, グリーン	(E,Z)-2,6-nonadienal	0.012	-	C
1621	腐敗, チーズ	butanoic acid	440	1899	C
1646	バラ, フローラル	phenylacetaldehyde	4.5	39.7	C
1658	煮タマネギ	3-sulfanyl-3-methyl-1-butanol	0.33	-	C
1770	柑橘, フローラル, バラ	citronellol	2.3	7.5	C
1815	脂肪酸, 油	(E,E)-2,4-decadienal	0.032	-	C
1820	フローラル, ミント	2-phenylethyl acetate	382.5	2760	C
1849	腐敗, 汗	hexanoic acid	910	-	C
1954	フローラル, スミレ	β -ionone	0.013	0.600	C
2020	金属臭, 生魚	trans-4,5-epoxy-(E)-2-decenal	0.0037	0.0590	C
2070	汗, 腐敗	octanoic acid	1990	-	C
2277	腐敗, 汗	decanoic acid	370	-	C
2335	腐敗, 汗	9-decenoic acid	150	-	C
2556	フローラル, バラ	phenylacetic acid	2080	-	C

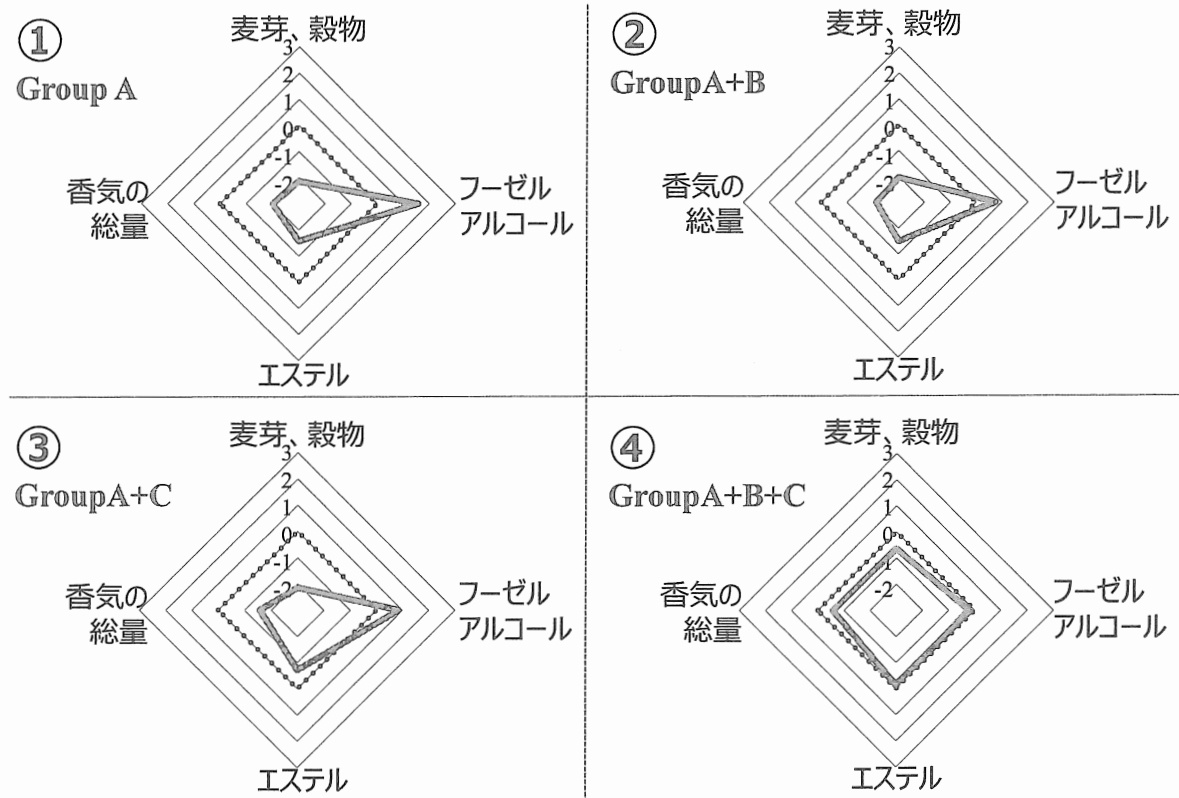


図1. 官能評価による再構成液の特徴評価⁽¹⁶⁾: ①Group A (25 成分), ②Group A+B (49 成分), ③Group A+C (54 成分), ④Group A+B+C (76 成分)

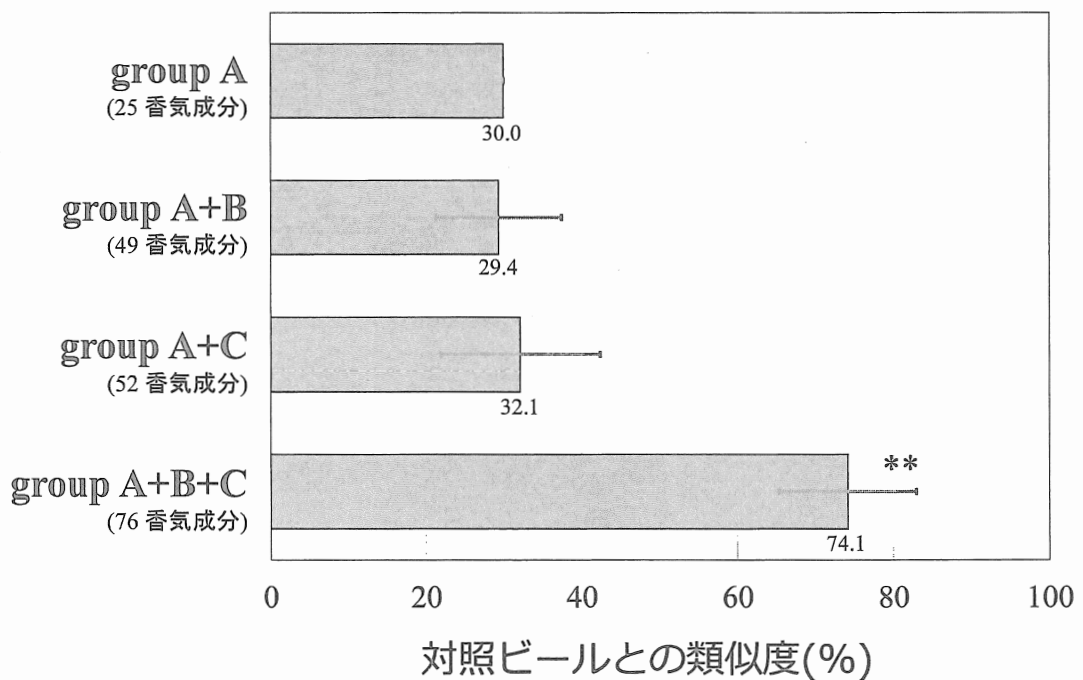


図2. 対照ビールと比較した再構成液の類似度評価⁽¹⁶⁾

文献

- 1) Nykänen, L.; Suomalainen, H. “*Aroma of Beer, Wine and Distilled Alcoholic Beverages*”, Springer Science & Business Media, 1983.
- 2) Nijssen, B.; Visher, K. I. “VCF online, Volatile Compounds in Food 16.4”, Triskelion B.V. a TNO initiative, Zeist, The Netherlands, <http://www.vcf-online.nl/VcfHome.cfm> (2016) .
- 3) Schieberle, P. “ New Developments in Methods for Analysis of Volatile Flavor Compounds and Their Precursors, in *Characterization of Food: Emerging Methods,*” ed. by A. G. Gaonkar, Elsevier Science B.V., 1995, p. 403.
- 4) Grosch, W. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chem Senses*. 2001, 26, 533-545.
- 5) 時友裕紀子：果実の香気分析 GC においかぎ分析と官能評価, 化学と生物, 2017, 55, 743-749.
- 6) Mayol A.R.; Acree T.E. Advances in gas chromatography-olfactometry. *ACS Symposium Series*. 2001, 782, 1-10.
- 7) Blank, I. Gas chromatography-olfactometry in food aroma analysis. *Food Sci. Technol*. 2002, 115, 297-331.
- 8) Meilgaard, M. C. Flavor chemistry of beer: part ii: flavour and threshold of 239 aroma volatiles. *Tech. Q. Master Brew. Assoc. Am*. 1975, 12, 151-168.
- 9) Fritsch, H. T.; Schieberle, P. Identification based on quantitative measurements and aroma recombination of the character impact odorants in a Bavarian Pilsner-type beer. *J. Agric. Food Chem*. 2005, 53, 7544-7551.
- 10) Kishimoto, T.; Wanikawa, A.; Kono, K.; Shibata, K. Comparison of the odor-active compounds in unhopped beer and beers hopped with different hop varieties. *J. Agric. Food Chem*. 2006, 54, 8855-8861.
- 11) Kishimoto, T.; Kobayashi, M.; Yako, N.; Iida, A.; Wanikawa, A. Comparison of 4-mercapto-4-methylpentan-2-one content in hop cultivars from different growing regions. *J. Agric. Food Chem*. 2008, 56, 1051-1057.
- 12) Kishimoto, T.; Morimoto, M.; Kobayashi, M.; Yako, N.; Iida, A.; Wanikawa, A. Behaviors of 3-mercaptohexan-1-ol, 3-mercaptohexyl acetate during brewing processes. *J. Am. Soc. Brew. Chem*. 2008, 66, 192-196.
- 13) Kishimoto, T.; Wanikawa, A.; Kono, K.; Aoki, K. Odorants comprising hop aroma of beer: hop-derived odorants increased in the beer hopped with aged hops. In *Proceedings of the 31st European Brewery Convention Congress*; Venice, Italy, 2007; pp 226-235.
- 14) Kishimoto, T.; Wanikawa, A.; Kagami, N.; Kawatsura, K. Analysis of hop-derived terpenoids in beer and evaluation of their behavior using the stir bar-sorptive extraction method with GC-MS. *J. Agric. Food Chem*. 2005, 53, 4701-4707.
- 15) Rettberg, N.; Biendl, M.; Garbe, L. A. Hop Aroma and Hoppy Beer Flavor: Chemical Backgrounds and Analytical Tools—A Review. *J. Am. Soc. Brew. Chem.*, 2018, 76, 1-20.
- 16) Kishimoto, T.; Noba, S.; Yako, N.; Kobayashi, M.; Watanabe, T. Simulation of Pilsner-type beer aroma using 76 odor-active compounds. *J. Biosci. Bioeng.*, 2018, 126, 330-338.
- 17) 岸本 徹：ビールの香り:その‘構造’を解き明かす, 化学と生物, 2018, , .
- 18) Engel, W.; Bahr, W.; Schieberle, P. Solvent assisted flavour evaporation - a new and versatile technique for the careful and direct isolation of aroma compounds from complex food matrices. *Eur. Food Res. Technol*. 1999, 209, 237-241.

以上

茶製造技術開発におけるGCの利用 ～香り緑茶の開発～

静岡県農林技術研究所 茶業研究センター 勝野 剛

●茶の香り

お茶の評価は、官能評価で行われ、大きく外観と内質を評価する。品評会では内質を水色（浸出液の色）、香気、滋味に分け行う。特に滋味では、舌で感じる味（旨味、苦味、渋味）だけではなく、口に含んだ時に感じる香りも評価している。それだけ、香りはお茶の品質を決める上で重要な要素だと言える。

煎茶は一番茶の極若い芽で作られたものほど品質が高く、香りにおいては新鮮な若葉の香り（審査用語ではみる芽香、新鮮香と表現される）を重視している。紅茶やウーロン茶のような華やかな香り（萎凋香と表現される）は製造上の欠点と評価される。しかし、お茶はし好品であることから、審査上の欠点が必ずしも悪いもの、まずいものではない。特に萎凋香は紅茶やウーロン茶を連想する香りであることから分かるように、むしろ好ましい香りである。

茶の国内需要は年々下がっており、その要因のひとつは急須で飲むことの面倒さにあるといわれている。また、煎茶は画一的で、産地が異なっても特徴が理解されにくい。一方で品種や産地の特徴を説明し、他とは違う特別なものとして販売を手掛け始めてもいる。

そこで、これまでにない新たな価値ある茶として、当センターで取り組んでいる「香り緑茶」の開発について、香り分析の利用をまじえご紹介する。

●香り緑茶とは

「ほんのりと甘い花様、果実様の香りを添加物なしで発揚させた茶」としている。緑茶では欠点とされる萎凋香をあえて特徴として前面に出したお茶である。

煎茶は、通常摘み取った新芽（生葉）を速やかに蒸熱、乾燥させる。一方で、ウーロン茶は生葉を天日や室内で静置し10時間前後しおれさせた後、釜炒りという方法で乾燥させる。煎茶とウーロン茶は生葉の取り扱い、乾燥の方法ともに異なるもので、日本の茶のほとんどは煎茶である。そこでウーロン茶の生葉処理と煎茶の製造方法を融合させ新たな茶の開発を行った。

●香り緑茶の作り方

簡単な製造方法を図1に示した。香り緑茶は生葉を12時間の処理（低温静置を中心とした香気発揚処理）を経て、通常の煎茶製造ラインで加工する。現在、製茶機械メーカーとともにシステムを開発し、ほぼすべての工程を自動で進めることができるようになっている。これにより当センターでは200kgの生葉を処理することができ、今後、さらに処理量の大きいシステムで、安定的に生産できるよう現場実証試験をすすめる計画がある。

●香り緑茶の香り成分

香気発揚処理の中心となる静置について、静置温度の違いと香気について比較するため、官能評価（図2）を行った。比較は無処理の

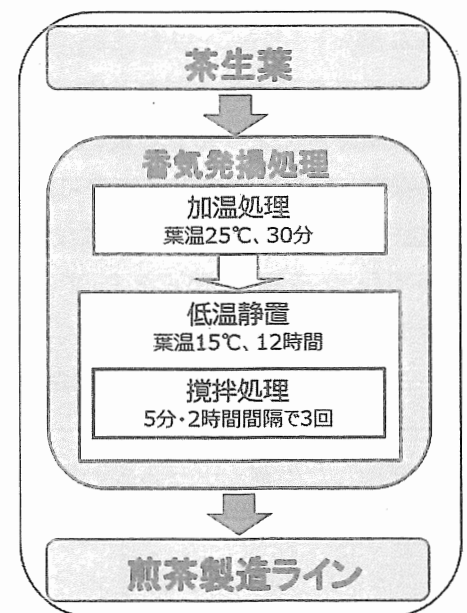


図1 香り緑茶製造方法

煎茶、15℃、及び25℃で16時間生葉を静置した後、製造した茶の3種類である。煎茶はグリーンの特徴が強く、25℃静置は、煎茶に比べグリーンがやや弱くフルーティ、フローラルがやや強かった。15℃静置は前2者に比べ、フローラルが強く、緑茶とは異なり、かつ香りが強くなった。

次に、これらの茶の熱水抽出物の香気成分を分析すると(図3)、15℃静置で多く、分析した成分の中ではインドール、ジャスミンラクトンが特異的に多かった。そこで、これらの成分が香りに貢献しているかを明らかにするため、においかぎGCによる解析を試みた。

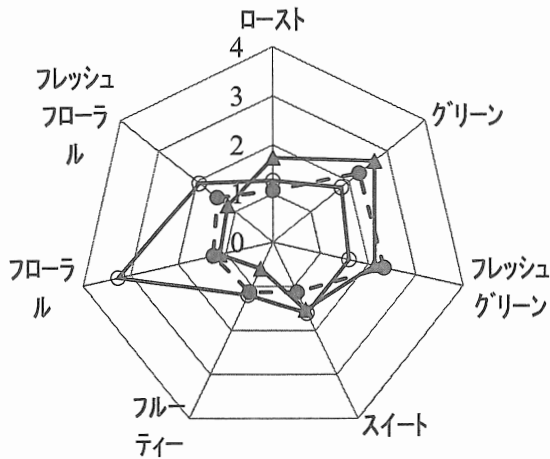


図2 生葉静置温度、時間と官能特性
▲ ; 煎茶 ○ ; 15℃ ● ; 25℃

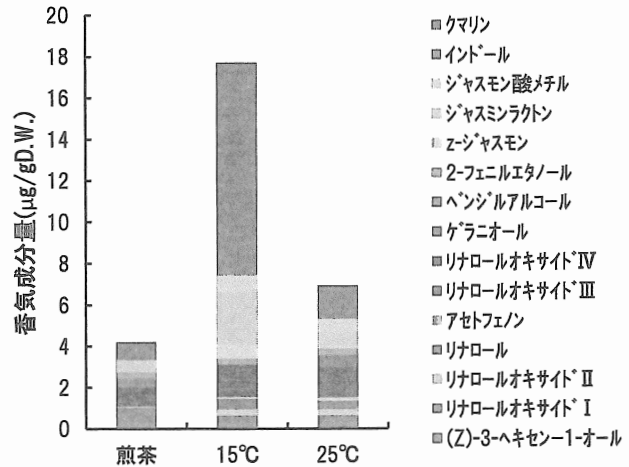


図3 生葉静置温度、時間と荒茶後期成分

においかぎ GC による AEDA(Aroma Extract Dilution Analysis)を行ったところ、15℃静置した茶において、インドール、ジャスミンラクトンが香気への高寄与物質であることが明らかとなった(図4)。この2物質以外にも、高寄与物質はあったが、GCのピークが小さいもの、物質特定に至らなかったものがあった。

●香り緑茶製造法の開発と機械化

低温静置により香りの質、量ともに煎茶とは大きく異なり、新たな緑茶としての可能性を見出したが、製造技術として確立しなければならない。低温静置についても、ある意味「たまたま」であったことが出発点であり、技術として確立するためには様々な条件と、香気発揚について調査していく必要がある。

ここでは攪拌処理と、加温処理の効果について紹介する。

○攪拌処理の効果

摘採した生葉をドラム式の攪拌機(揺青機)を用いて30分攪拌を行い、低温静置(15℃)した。静置4時間ごとに荒茶を製造し分析サンプルとした。インドールとリナロールの経時的変化を図5に示す。

インドールは攪拌処理によって増加し、最大量は攪拌なしでは16~20時間であったのに対し、攪拌有では12時間と静置時間が短くなった。リナロールは4時間で増加し、その後の増加量は緩やかであり、攪拌の有無での差は小さかった。リナロールは細胞中に二糖配糖体の形で液相中に存在し、細胞壁に存

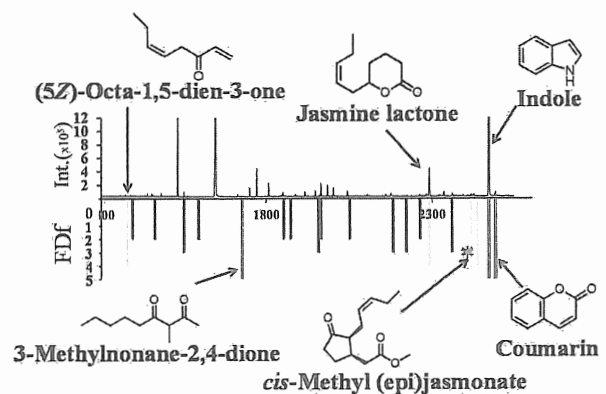


図4 香り緑茶のAEDAと香気寄与物質

在する酵素によって遊離することが知られている。そのため、細胞が傷つかなければならないが、攪拌処理では細胞レベルでの損傷があまり大きくないことが示唆された。一方で、インドールはトリプトファン生合成の中間体であることから、攪拌によりストレスにより生合成が昂進したものと考えられる。

○加温処理の効果

ウーロン茶の製造では、摘採した生葉を天日で10~60分ほど日干萎凋を行う(天候等により時間は様々)。この処理を機械に置き換えることを目的に、温風処理方法を検討した。摘採した生葉へ各温度の温風を(15℃は加温処理なし)1時間送風した。攪拌処理区は加温処理終了後30分の攪拌処理をし、低温静置(15℃)を12時間行った。後期発揚処理終了後、荒茶を製造し、分析サンプルとした。

荒茶のインドール含量を図6に示した。攪拌処理を伴わない温風処理は、無処理区を含め、温度による差はみられなかった。一方攪拌処理を行ったものは、30℃で最も多くなった。

加温処理のみでは、処理による香気発揚効果は期待できないが、攪拌処理の効果を高めることが明らかとなった。

●香り緑茶大量生産システムの開発

機械での大量処理方法を構築するうえで基本としたことは、可能な限り現在使用している装置を利用し、新規の物は最小限にとどめるということであった。

煎茶生産現場では、昼の摘採可能な時刻に、できるだけ多くの葉を摘み、その葉を深夜まで順次荒茶に製造する。煎茶は摘採後すみやかに製造することが、品質の上で重要であるが、生産性の点から、少なからず生葉の保管を行う必要がある。このため、その大小はあるものの、製茶工場には生葉を一時的に保管しておく生葉コンテナがある。このコンテナは生葉を加湿し、送風により葉温を低く保つ。香り緑茶製造では、このコンテナを一時的な保管場所としてではなく、処理装置として利用することとした。送風装置へは加温用ヒーターを装着し、冷風機を接続するあるいは、生葉保管室ごとエアコンで冷やすことで、15℃程度の低温条件にすることができる。

攪拌処理については煎茶で流用できる装置が無いいため、新たに設置することが必要であるが、できるだけ

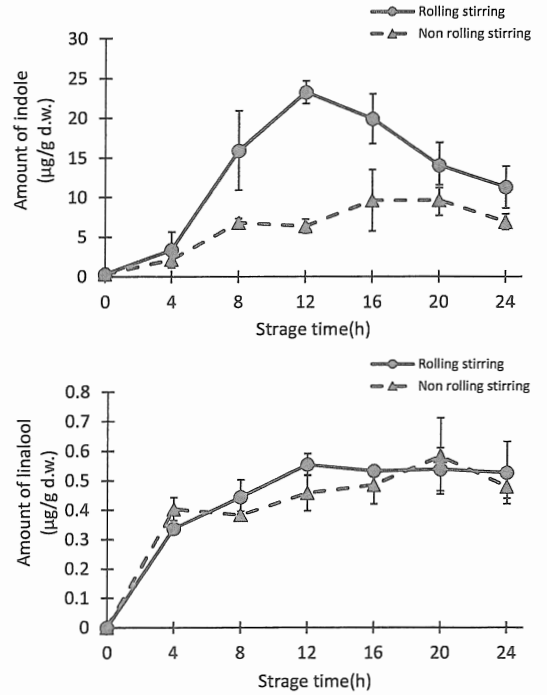


図5 低温静置時間と香気成分の変動
インドール(上) リナロール(下)

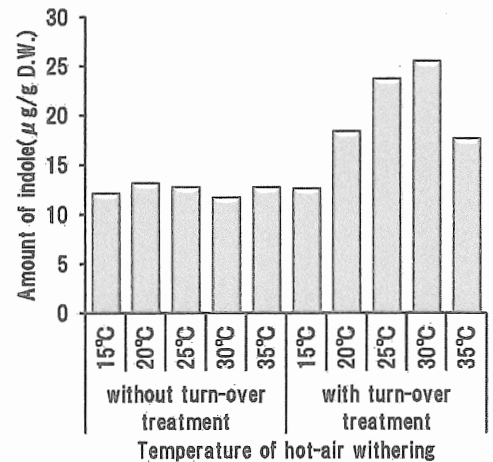


図6 加温温度、攪拌の有無とインドール含量

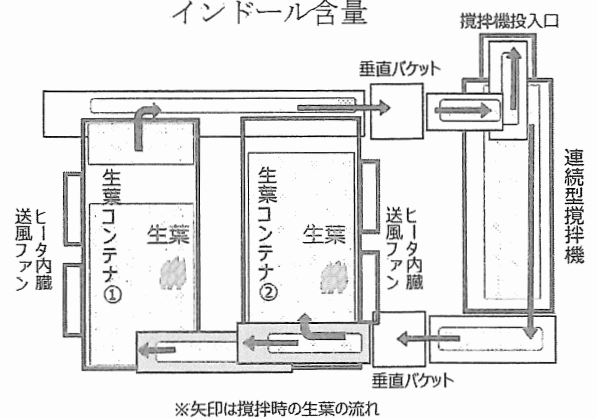


図7 香気発揚システムの一例

小型で効率の良い装置とするため、様々な処理方法の試験を行った。

最終的に攪拌処理の1回当たりの時間は5分、攪拌の間隔は2時間程度で効果が期待できることが明らかとなったことから、装置としては、攪拌処理を連続的に行えるものとした(図7)。

これによってある地点の生葉については、2時間ごとに5分の攪拌が行われるが、全体としては低温静置が始まり6時間ほどの間、生葉コンテナと攪拌機を順次生葉が循環しながら香気発揚処理が行われるシステムとなる。

●茶製造技術開発と香り分析

現在当センターでの香り分析は、GC-MSを利用している。試料の前処理としては、熱水抽出物から有機溶媒を利用した固相抽出、SPMEファイバーによるヘッドスペースガス分析が主体である。茶製造技術に関する試験では、最終的には荒茶でどうかということが問われるのだが、様々な条件について検討しようとする、すべてのものを荒茶にすることは困難である(茶製造の時間はおよそ4時間)。一方で、生葉を分析サンプルとする場合、香り緑茶がそうであるように、生葉を置いておくことそのものが処理となってしまうため、何らかの方法で変化の進みを止める必要がある(急速冷凍や蒸熱)。分析についても、生葉を扱うとなると抽出時の変化(内生酵素による反応、外気による酸化)を最小限にする必要がある。

これらのことを考慮すると、いかに手間なく香気を抽出できるかが重要となってくる。また、1回の分析でいかに多くの物質を精度よく分析できるかという欲も出てくる。

物質として分析できても、香りとしての重要性について閾値などを考慮した解析技術も必要となってくる。現在、分析についてはSPMEのように、オートサンプラーである程度自動化できてきているものもあるが、解析技術も含めさらなる進歩に期待したい。

茶製造の現場としては、香りが水分や温度のように、リアルタイムで計測できる技術が確立されると、更なる高品質化、安定生産が可能になると考えられる。

●関連文献

- 1) Katsuno, T., Kasuga, H., Kusano, Y., Yaguchi, Y., Tomomura, M., Cui, J., Yang, Z., Baldermann, S., Nakamura, Y., Ohnishi, T., Mase, N. and Watanabe, N. (2014): Characterisation of odorant compounds and their biochemical formation in green tea with a low temperature storage process. *Food Chem.*, 148, 388-395
- 2) 勝野剛・後藤正・小林利彰(2017): 茶生葉低温静置前の攪拌処理が香気発揚に及ぼす影響. 茶研報, No.123, 17-20
- 3) 静岡県経済産業部(2017): 新たな「香り緑茶」の開発. あたらしい農業技術, No.636

技術講演 1

1. 「DART-MS を用いたリアルタイムフレーバーリリース/レトロネーザル香気成分分析」
(エーエムアール株式会社) 坂倉 幹始
2. 「SPME-GC/MS を用いた食品中オフフレーバー分析の紹介」
(アジレント・テクノロジー株式会社) 姉川 彩

DART-MSを用いたリアルタイムフレーバーリリース/レトロネーザル香気成分分析

エーエムアール株式会社 坂倉幹始（さかくらもとし）

フレーバーリリースは食品・特に加工食品の風味・食感の上質化や栄養食品における QOL 向上のため、これからの食品開発において他の製品群との差別化に重要なファクターの一つになる。また、分子ガストロノミーと呼ばれる分野における重要な項目の一つでもあり、フレーバーリリースは産業・学術双方の面から着目されている。

においの分析にはガスクロマトグラフィー質量分析が非常に強力なツールとして用いられ、ごく微量な香気成分を検出し、人間の検出限界に近いごくわずかな香味成分の差や多成分を分離・識別することが可能。経時的な香味の変化を追跡することが難しい。リアルタイム質量分析(Direct Analysis in Real-Time Mass Spectrometry; DART-MS)は前処理なくサンプルを測定できるイオン源でサンプルの状態を反映したマススペクトルが取得できる。

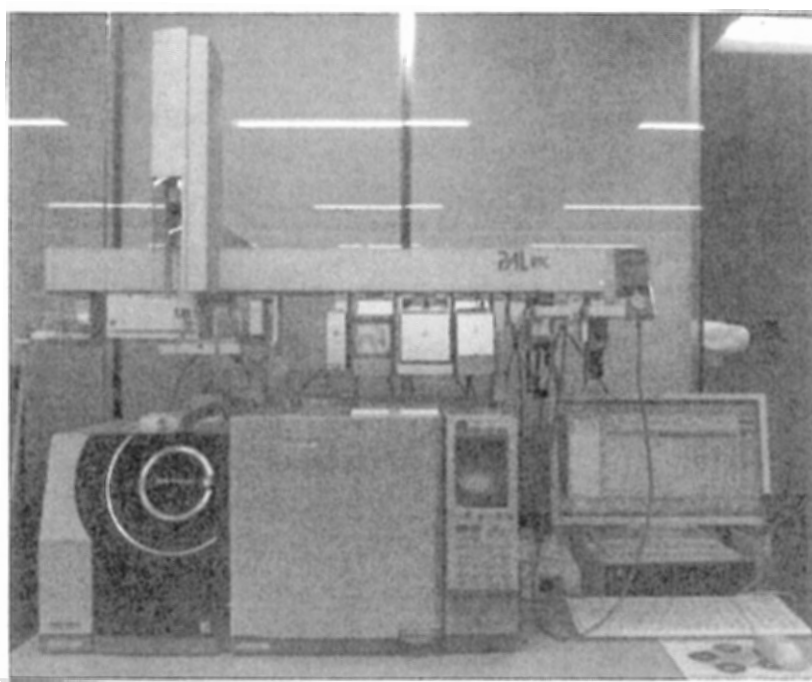


図 1、PAL RTC を接続した GCMS-QP2020

ここでは、フレーバーティの解析例を紹介する。サンプルから放出されるにおいの経時的変化を追跡するため、DART-MS を利用しデータを取得した。DART-MS は分離カラムを利用しない分析であるため多成分の分析が難しく、そのためガスクロマトグラフィー質量分析による支援が欠かせない。本発表では島津 GCMS-QP2020 を利用し、におい成分の定性を行った(図 1)。オートサンプラーに CTC 社製 PAL RTC を利用し、フレーバーティ熱水抽出物をヘキサンで液液抽出したものを 1 μ L インジェクションした。リナロール、フラノン、

ピラン、ラクトン、カフェインが検出され、それぞれ分子量情報が取得できた(図 2)。

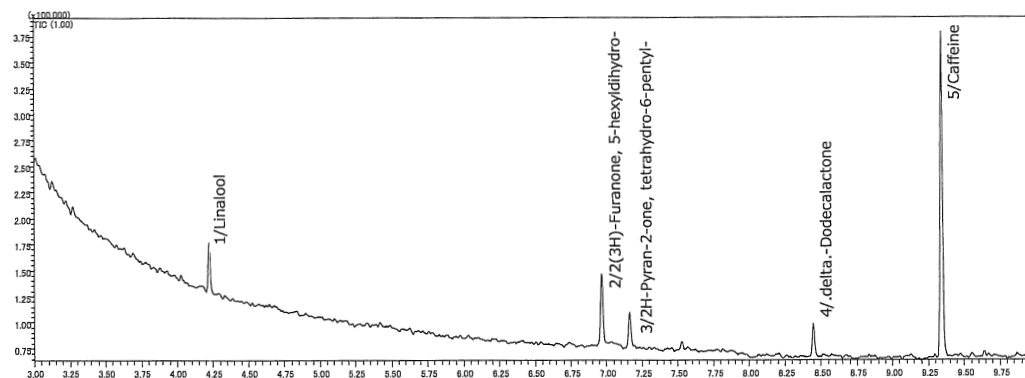


図 2、GC-MS によるフレーバーティの分析



図 3、DART を利用したフレーバーティの分析

この情報を基に DART-MS でリアルタイム分析を行った(図 3)。得られたデータを時系列で表示すると(図 4)のようになる。時系列データからリナロールは立ち上がり鋭い傾向が、ピラン・ラクトンは緩やかに減衰する傾向が確認された。また、測定後 10 分ごろから検出される成分が確認された。これは GCMS では検出できておらず、前処理法の改善が必要であると考えられた。水の影響を防ぐため Monotrap RCC18(GL サイエンス)を利用した。Monotrap は 2 日間インキュベート後、アセトン:ヘキサン = 1:1(v/v) 100uL 超音波で 5 分間照射し抽出液 1ul を GCMS へインジェクションした。

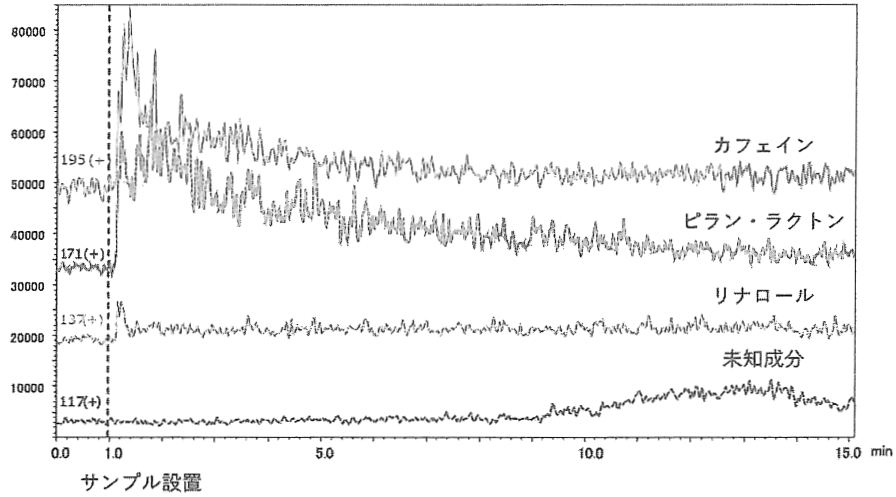


図 4、においの時系列データ



図 5、Monotrap を利用した香気成分の抽出

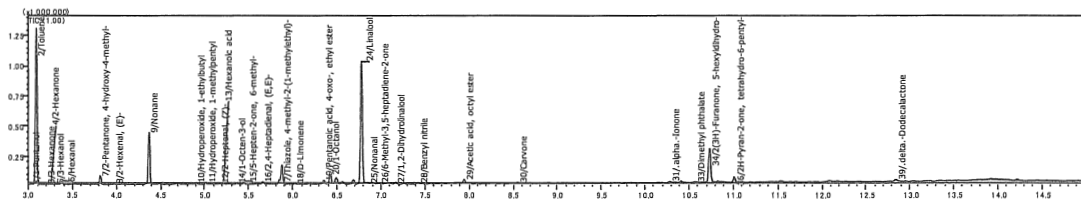


図 6、Monotrap 抽出液の GCMS クロマトグラム

検出された成分とフレーバーリリースで得られた結果のマージを行うとジアセトンアルコールの可能性が示唆された。この成分は社屋の工事に由来する揮発成分が熱水抽出中に混入した可能性があるとして推定された。今回の結果は官能に影響を及ぼすものではなかったが、特定のタイミングで検出される揮発成分をとらえることができるシステムが、GCMS で得られた結果をより補強するものになる可能性が示唆された。このように、サンプルの形態を問わない分析法が状態変化の追跡に用いることで今後様々な分析の助けになるものと考えられる。

現在オルトネーザル・レトロネーザル分析が香味分析の中で特に近年着目されてきており、様々なモデル・分析法が開拓されている。本リアルタイム質量分析システムを利用することでも経時的変化の追跡が可能である。コーヒーおよびココアの揮発成分を、簡易的なRAS モデルを用いた測定を行った。

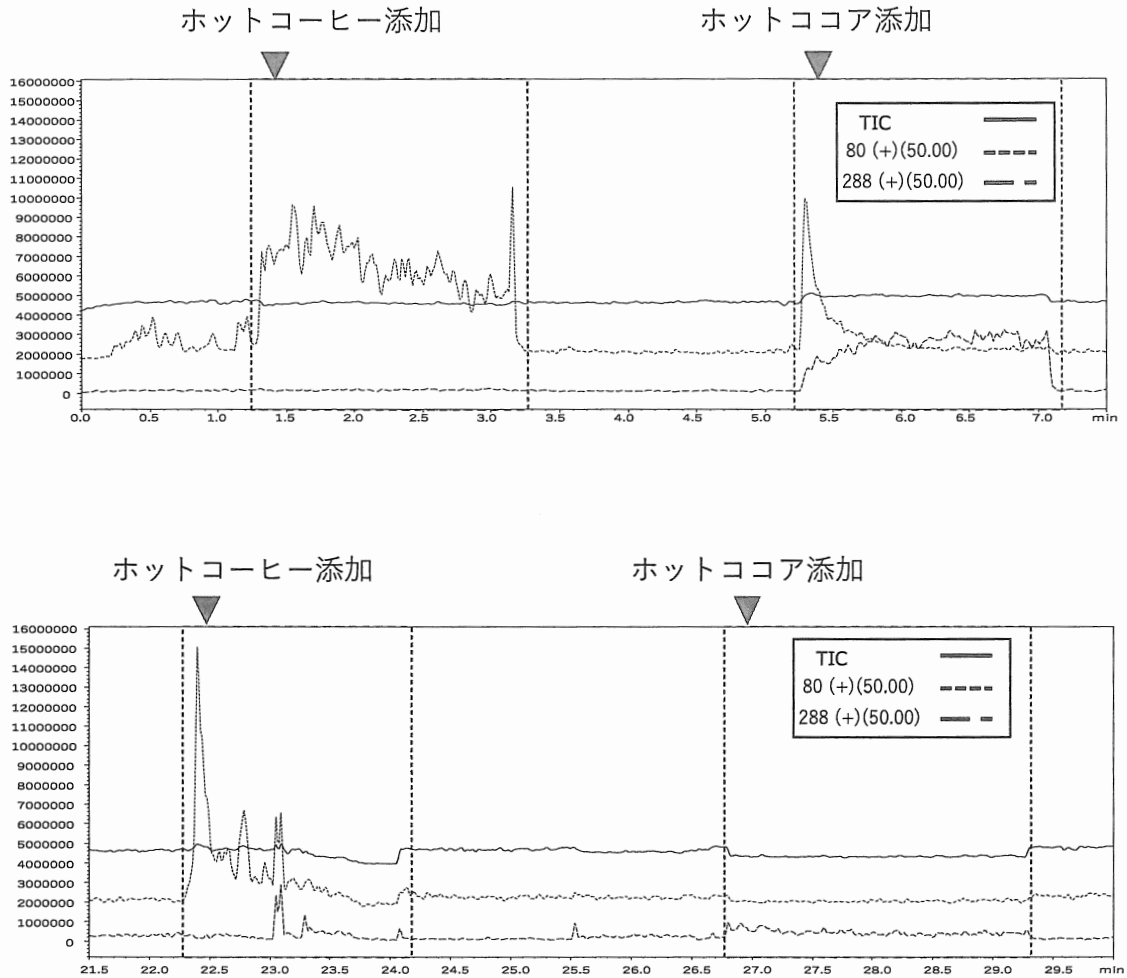


図 7、コーヒーおよびココアの時系列データ

サンプルを入れる溶媒ボトルに 3 ポートキャップを接続し、それぞれ 1L/min のゼロエアでパージするポート・DART イオン源にガスを供給するためのポート・サンプル添加用のポートとした。サンプルボトルに 37°C であらかじめ加温した 100ml の①超純水(スタンダード)および②市販の経口補給水(疑似唾液)にサンプル供給ラインから 60°C に保温したホットコーヒーおよびホットココアを 100ml 添加した。超純水にホットコーヒーを添加すると、 m/z 80 の強度が強くなり立ち上がり、ホットココアの場合遅れて m/z 288 が検出された。一方、経口補給水にホットコーヒーを添加した場合、 m/z 80 のシグナル保持時間が短くなり(シグナルスパイクはサンプル供給時の液はね由来)、ホットココアでは m/z 288 が消失する(図 7)。

においは成分どうしが相互作用し単純な発散をしないため、より現実のにおいを調べるためには経時的なモニタリングが必要となる。そのため複数の装置で得られる結果を相補的に扱うことでより現実に近い情報を取得することが可能になる。本システムはトリプル四重極質量分析計やタンデム飛行時間型にも接続可能であり、複雑なにおい系にも応用できると期待される。

SPME-GC/MSを用いた食品中オフフレーバー 分析の紹介

- その特徴と分析手法をこの編が


アジレント・テクノロジー株式会社
 各回サトウタラシマー、質量分析部 分析部門
 GC・GC/MSアプリケーションエンジニア

篠川 彰

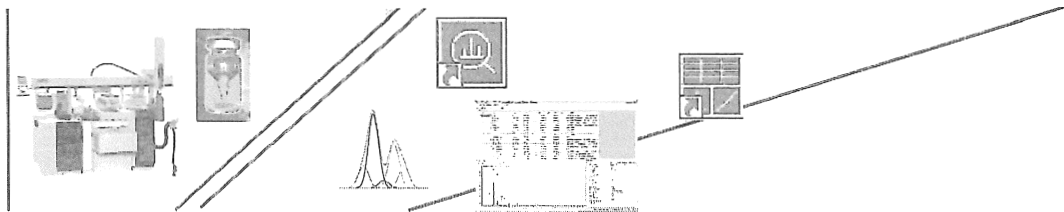
アジレント 異臭分析トータルソリューション



異臭発生

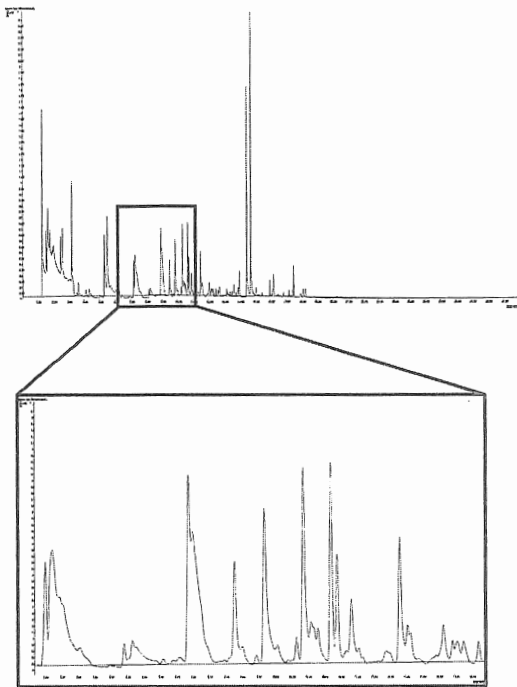


異臭原因特定



“正確さ” “迅速さ” “簡便さ”を兼ね備えた強力な
 異臭分析ソリューションをアジレントが提供！

GC/MSデータからの異臭成分特定



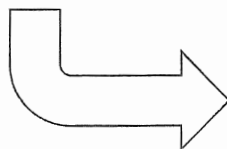
Agilent

異臭分析用MSスペクトルライブラリ

例：DB-WAXUI用, VF-5ms用

- ・過去に事例のあるもの
- ・包装材からの混入
- ・保管庫（冷蔵庫など）での移り香
- ・保管庫内での混入（防虫剤など）
- ・一部香気成分（濃度や組み合わせにより異臭となりうる）

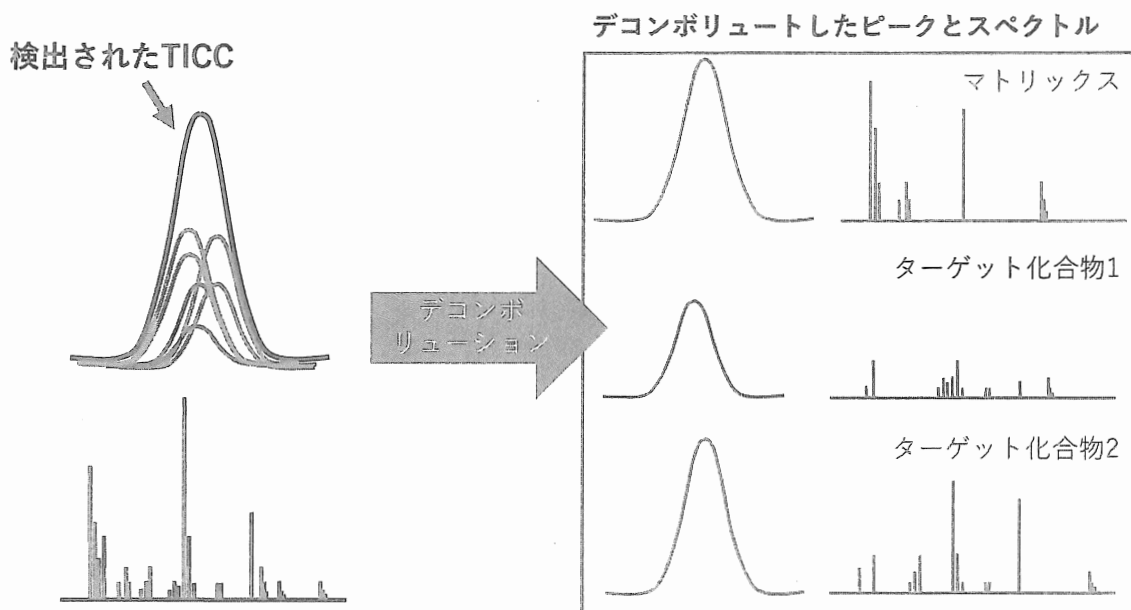
異臭原因候補
500成分以上



アジレントGC/MSユーザー様のみWebから"無償"ダウンロード可能
(<http://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1004528>)

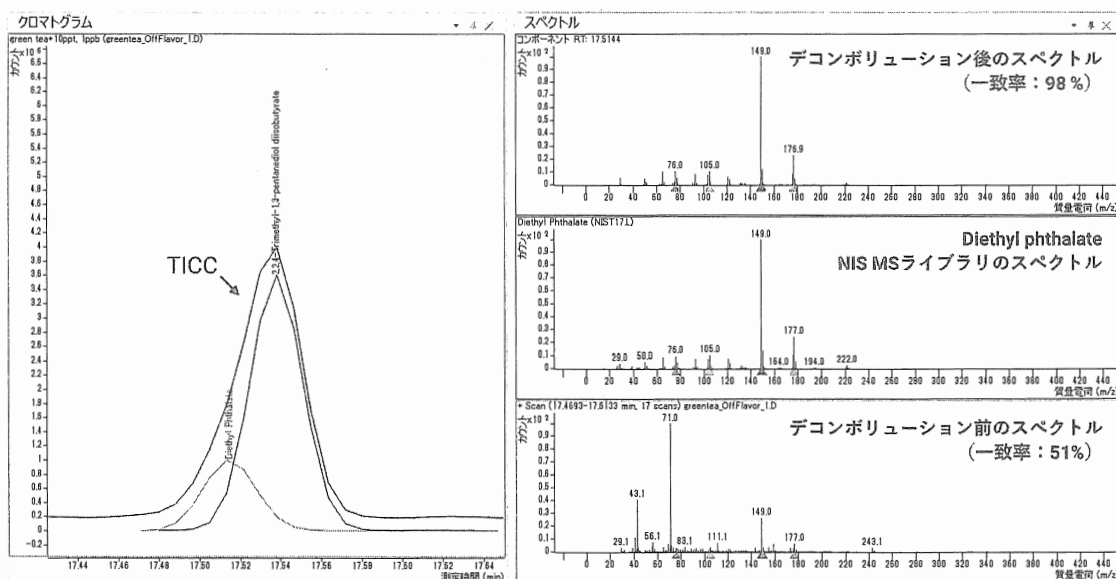
Agilent

デコンボリューションについて



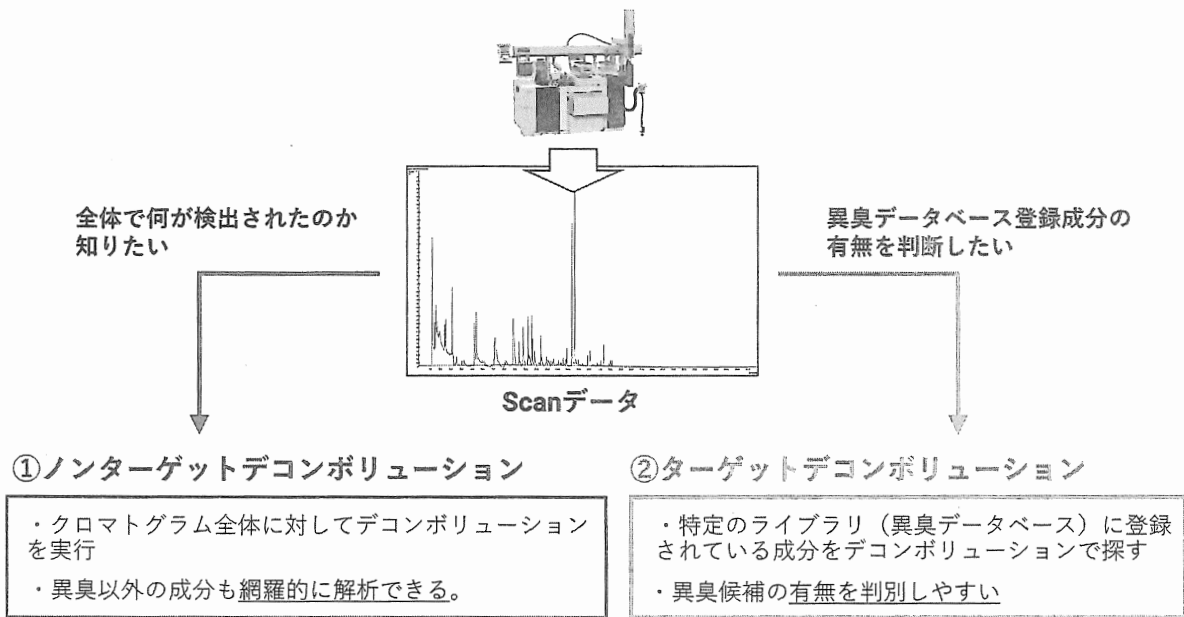
デコンボリューションでは、ピークトップのRTが同一のイオンを一つの化合物としてグルーピングし、夾雑ピークの影響を減らしたマススペクトルを再構築。

デコンボリューションについて



デコンボリューションを行わない場合に比べてピュアなマススペクトルが得られたことで、ライブラリー一致率が大幅に向上。

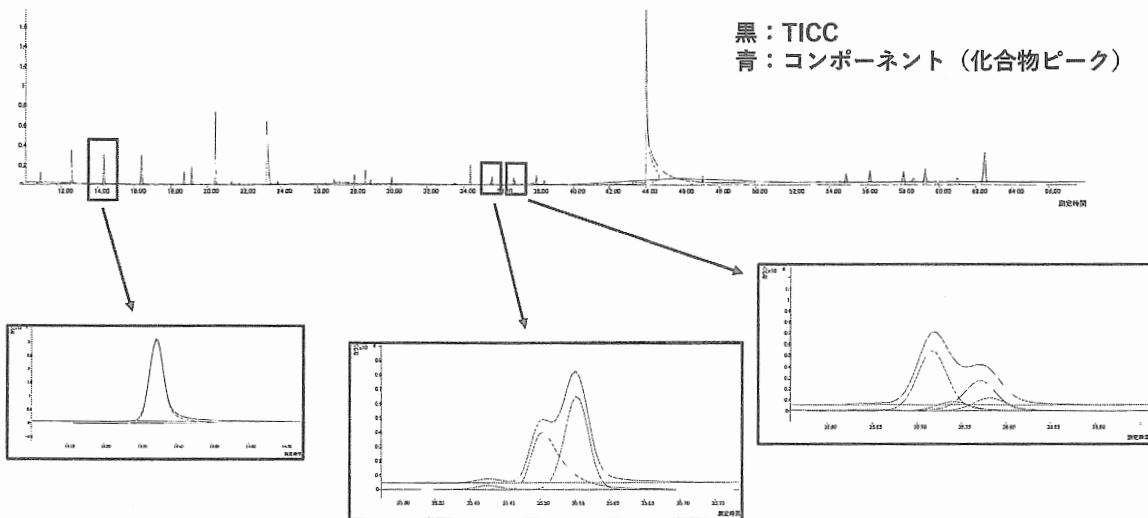
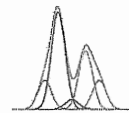
デコンボリューションによる異臭分析ワークフロー



アジレント質量分析計データ解析ソフトMassHunterは、デコンボリューション機能を標準搭載。

Agilent

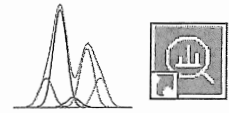
①ノンターゲットデコンボリューションとは？



- ・全てのピークを対象としてデコンボリューションを行なう。
- ・異臭原因候補以外にも、化合物ピークを網羅的に解析できる。
- ・デコンボリューションして抽出した化合物スペクトルに対してライブラリ検索が可能。

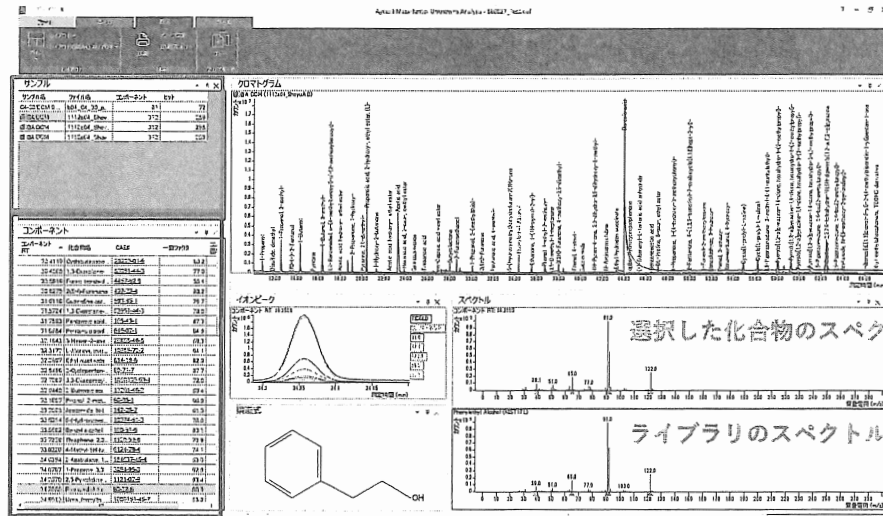
Agilent

①ノンターゲットデコンボリューション MassHunter Unknown Analysis

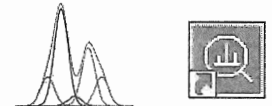


サンプルデータ
(Scan)

ライブラリヒットした
化合物リスト

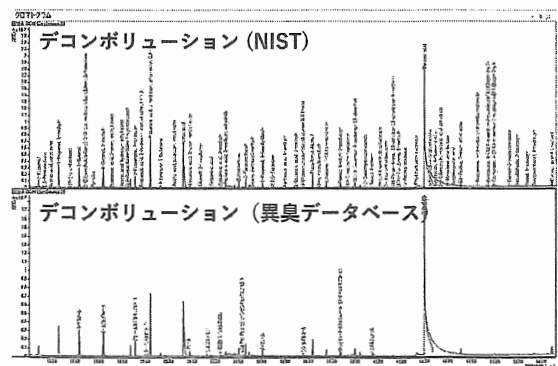
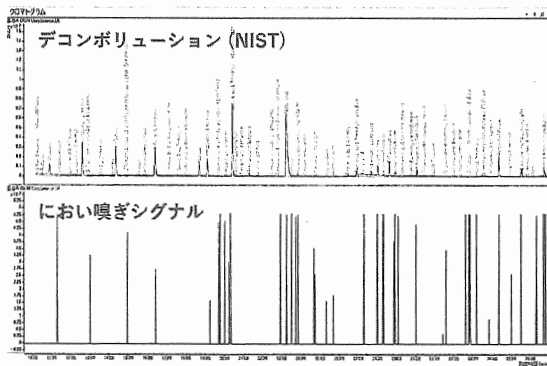


①ノンターゲットデコンボリューション MassHunter Unknown Analysis



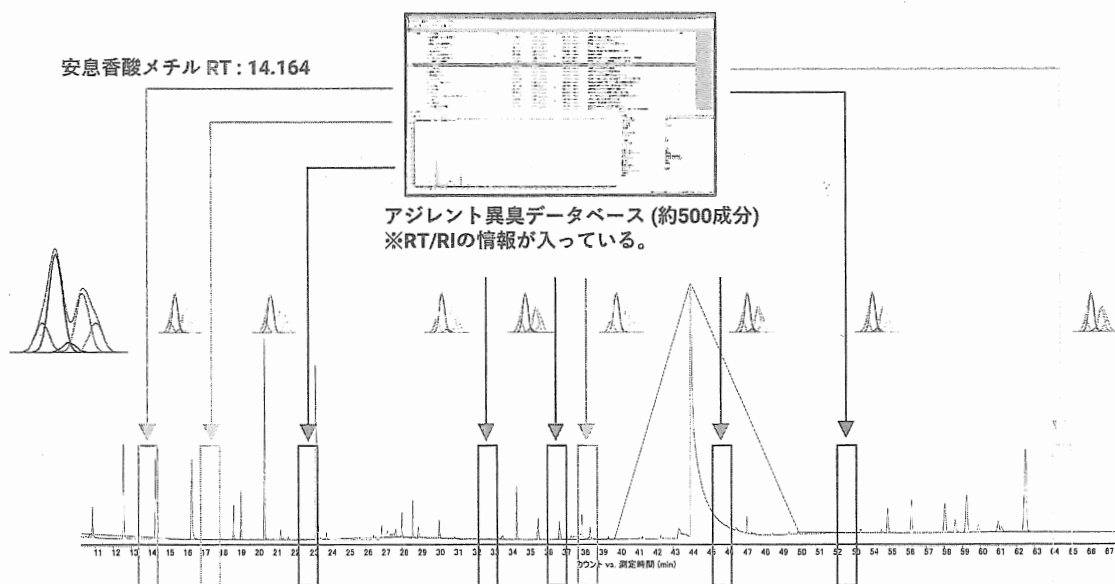
におい嗅ぎ信号との並列表示

複数ライブラリによる検索結果の



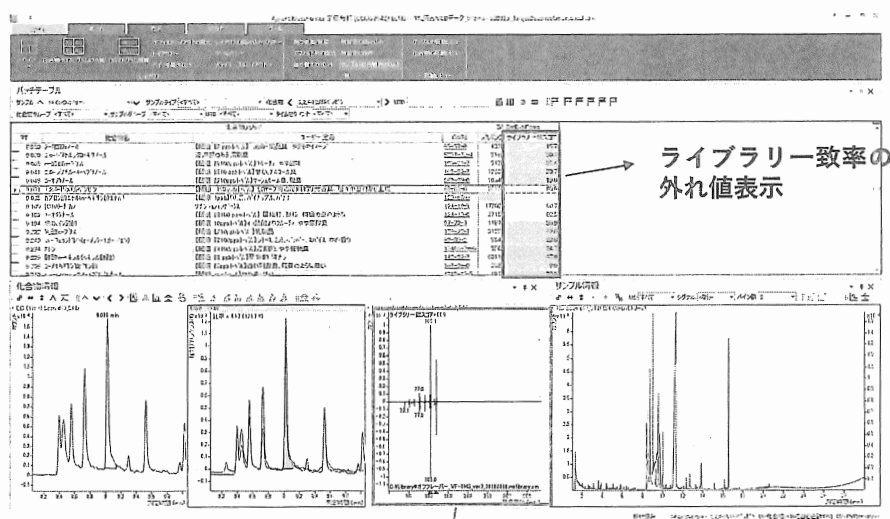
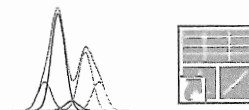
デコンボリューション結果に対して、におい嗅ぎ信号（またはGC検出器信号）や、複数ライブラリによる検索結果の並列表示が可能。

②ターゲットデコンボリューションとは？



- ・ 異臭成分だけをターゲットに絞ったデコンボリューションにより、異臭成分を探しに行く。
- ・ 異臭データベース以外の“ターゲットライブラリ”を使用すれば、異臭分析以外にも応用可能。
- ・ リテンションインデックスも使用可能。

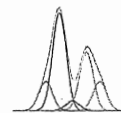
②ターゲットデコンボリューション MassHunter Quantitative Analysis (定量ソフト)



デコンボリューション結果

標準仕様の定量ソフトで、異臭分析用ターゲットデコンボリューションメソッド (近日公開予定) を利用することで、ターゲットデコンボリューションが可能に。

②ターゲットデコンボリューション MassHunter Quantitative Analysis (定量ソフト)



MassHunter Quantitative Analysis software interface showing a list of compounds and their corresponding mass spectra.

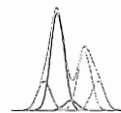
プラスチック

- たまねぎ
- にんにく
- ハーブ
- ピーマン
- プラスチック
- ミント
- 澁
- 臭臭
- 花
- 柑橘
- 甘い
- 金属
- 殺菌
- 刺激臭

ターゲットデコンボリューションの結果は、「においの種類」や「ヒットしている化合物のみ」などフィルタリング表示が可能。

プラスチックのにおいをする異臭成分のみ

②ターゲットデコンボリューション MassHunter Quantitative Analysis (定量ソフト)

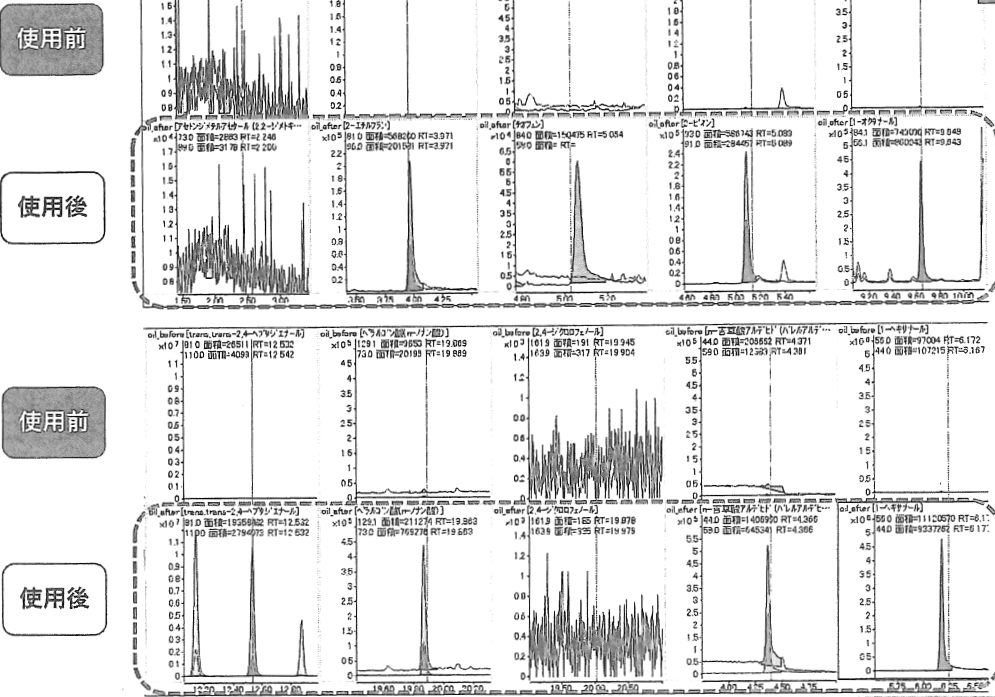
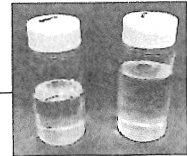


MassHunter Quantitative Analysis software interface showing a list of compounds and their corresponding mass spectra.

ライブラリでヒットした異臭成分のみ

ターゲットデコンボリューションの結果は、「においの種類」や「ヒットしている化合物のみ」などフィルタリング表示が可能。

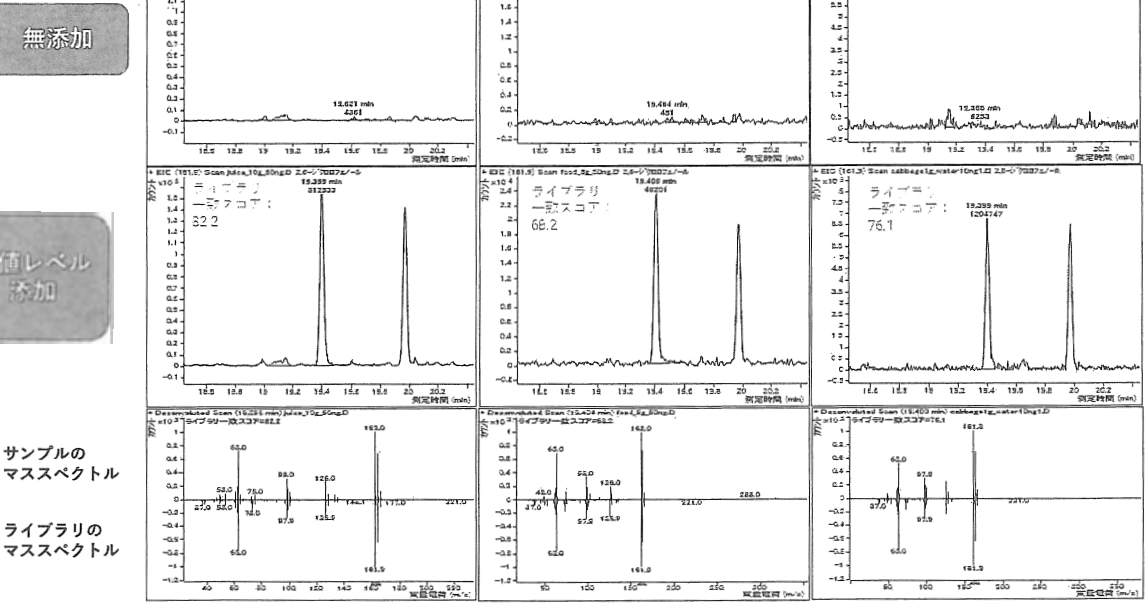
事例1) 使用前後サラダ油の異臭成分比較



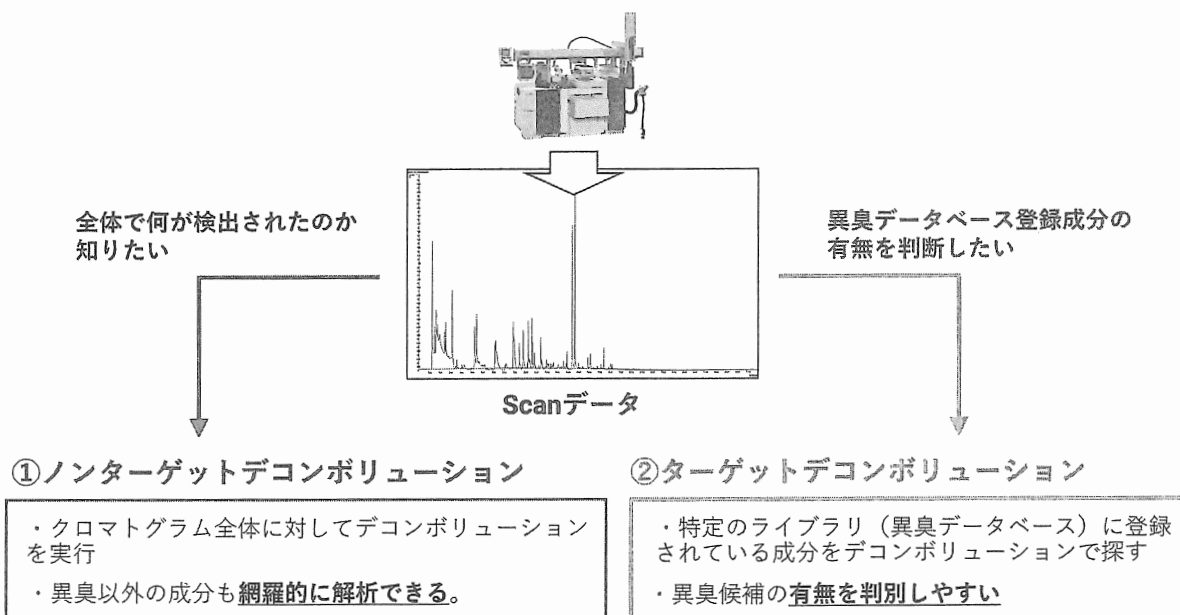
事例2) 消毒成分の探索結果

野菜ジュース、惣菜、カットキャベツをサンプルとしてSPME-GC/MS/MS分析

2,6-ジクロロフェノール

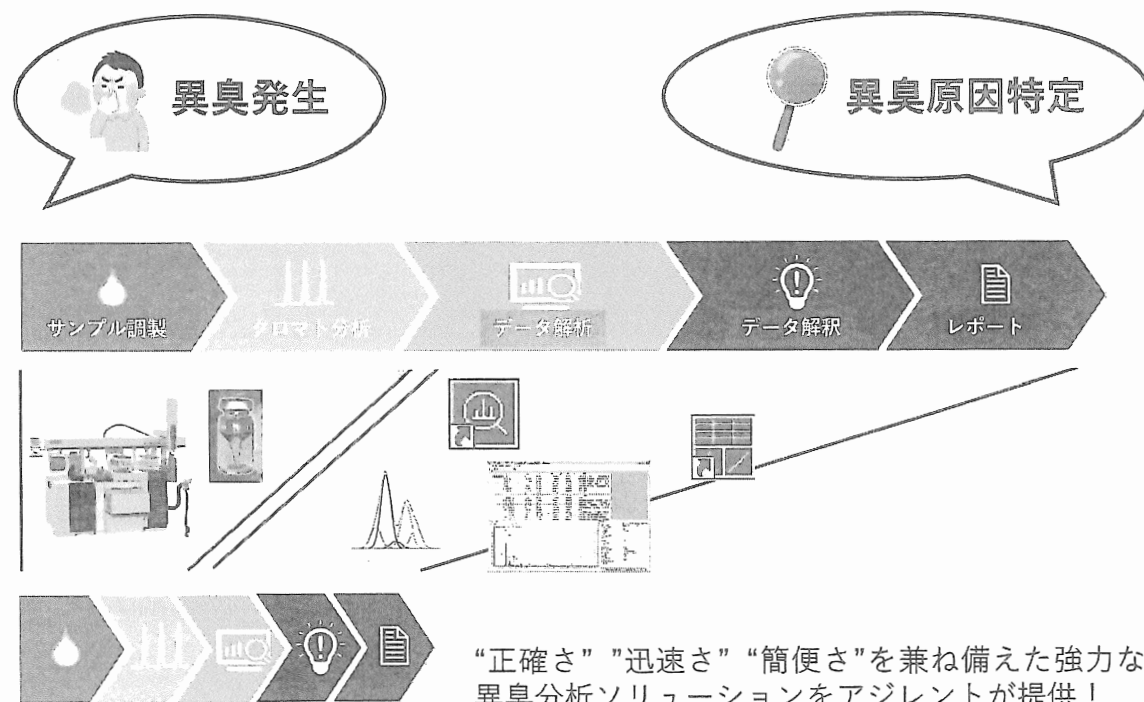


デコンボリューションによる異臭分析ワークフロー



アジレント質量分析計データ解析ソフトMassHunterは、デコンボリューション機能を標準搭載。

アジレント 異臭分析トータルソリューション



国際学会報告

「42nd International Symposium on Capillary Chromatography and 15th GCxGC Symposium ～2020年の国際キャピラリーシンポジウムにみんなで参加しませんか?～」

(アナリティクセンス株式会社) 羽田 三奈子

42nd International Symposium on Capillary Chromatography and 15th GCxGC Symposium
～2020年の国際キャピラリーシンポジウムにみんなで参加しませんか？～

アナリティクセンス株式会社 羽田三奈子(はだみなこ)

〔はじめに〕

皆様は“International Symposium on Capillary Chromatography”という学会名をおききになったことがありますか？GCの分野の人達の間では、通称“ISCC”とか“リヴァ”などと呼ばれている国際シンポジウムで、今年で42回目の開催を迎えました比較的古い学会です。2年毎に北イタリアのリヴァ・デル・ガルダというところで大規模に行い、その間は各国で開催されています。本日、GC懇談会特別講演会の場で「42nd ISCC レポート」という名目でお話しすることになった理由はただ一つ、日本の皆様にもこの学会を知っていただき、できれば(会社の承認がもらえそうなら)学会発表をしてほしいなあ……とずっと考えていたからです。

日本の研究者の分析技術レベルは他国と比べても高いですが、その反面、欧米諸国は新しい技術をいち早く取り入れているというも現況です。ですから、お互いに情報交換できる場をもっと増やしたいと考え、この学会は最適な場所ではないかと思いましたので、本日もご紹介の場をもうけることに致しました。

会社から海外出張の承認が出ない場合は仕方ないですが、英語が苦手だからと躊躇している方は、是非ご検討なさってみてください。英語がダメでも日本語が得意な方なら全く問題ないことを(根拠はないですが)お約束します。



北イタリアの美しいガルダ湖

〔学会のスケジュールや内容〕

この学会は、GC×GCコースと同時開催になっており、日程は下記のように組まれています。合計参加者は830名でした。

■GC×GCコース：6月12～15日

■ISCC：6月14～19日

毎晩のパーティーも学会の楽しみの一つです。

- 月曜日 DANI 社 レセプションパーティー
- 火曜日 PerkinElmer 社 クラシックコンサート
Gerstel 社 カクテルパーティー
- 水曜日 Agilent 社 Wine&Cheeseパーティー
Thermo 社 ダンスパーティー
- 金曜日 Waters社 さよならパーティー

今年の大会長はMessina大学のLuigiMondello教授でした。この数回はMondello教授が務めていますが、長い間、元Ghent大学のPatSandra教授が君臨していた印象が強い方も日本には多いことと思います。

他にも、SPMEを開発したWaterloo大学のJanusz Pawliszyn教授や、GC×GCの大家であるFDAのJean-Marie Dimandja博士、最近注目されているSPME Arrowを開発したBGB社のBeatSchlling社長など、日本では滅多に会うことができない先生方と気軽にディスカッションすることができるのも、この学会の醍醐味です。



水鳥の種類も豊富で人懐っこい

[分野やトレンド]

参加者は、植物、香料、食品、製薬、環境、医学、化学機械、素材など幅広い分野の研究者です。また、発表内容は分析メソッドの開発、前処理方法、カラムの固定相の合成、機器の開発など、どんな内容でも歓迎される印象があります。“キャピラリーシンボジウム”ですが、キャピラリーにこだわる必要はありません。

この学会は「GC×GCコース」が同時開催であるため、やはりGC×GCの発表が多いのですが、今回興味深かったのが質量分析計の多様性でした。私は仕事柄どうしても分析機器や手法が気になってしまい、なぜその方法を選んだのかをつい聴いてしまう癖があります。GC×GCといえば高速データ採取が必須と思っていましたが、目的や予算状況によって選択が異なる点が大変印象に残りました。

・GCxGC-高分解能TOFMS

高分解能TOFMSのデータ取込速度は高速TOFにはおおよびませんが四重極よりは早いので、同定率を高める目的で、このシステムを選択している発表者が数名見られました。

・GCxGC-トリプル四重極MS/MS

シングルQモードでまずキー化合物を探索し、部分的にMS/MS法を用いて高感度分析をするという方法です。Selected Reaction Monitoringモードを使用して植物代謝物の重要化合物分析する面白い手法でした。

今後の展開として、SRM法ではなく共通骨格を探索するモードが類似化合物を見つけるのに利用できるのでは、という議論になりました。

・GCxGC-FID

フィンガープリント目的のパターン分析にはこれだけで充分派も根強いきました。でも実際は“予算がないから”だそうです。(研究費の問題はどこでも深刻です。)

・GC-FTIR

赤外分光計法を用いた発表が数件ありました。GC-IRは自社で取扱っていることもあり、官能基が判別できる分析は個人的に大好きです。P.Sandraの講演でも使用されていたようなのですが、残念ながら聞き逃してしまいました。



DANI社新製品GC-TOFMS/FTIR

[展示内容]

分析機器やラボ製品メーカーなどの企業展示の中で、ブース撮影許可が得られた企業を簡単に紹介致します。

(アルファベット順)

・Agilent ・Brechtbühler AG ・Carlo Erba Reagent
・CTC ・DANI ・Entech ・GAS ・Gerstel ・LECO
・MARKES International ・Merck-Sigma Aldrich
・PAS ・Thermo Fisher ・VICI

[英語が苦手な方へ]

口頭発表での英語の質問は免れることができませんが、ポスター発表ならなんとでもなります。私は今回で4回目の参加ですが、前の3回はポスター発表をしました。初めての参加の時は、初めての海外出張でもあり、ポスター発表の当日朝から内蔵が全部口から出てしまうのではないかとくらい緊張していました。ポスターのところに外国人が来ないように念じていたら、複数の外国人が私のポスターをじっと見えています。「あなたはHADAさんですか？」ときかれ、咄嗟に首を横に振りましたが、相手にすかさず「あなたのネームプレートと first author は同じ名前ですね？」と言われ「No...I'm different HADA...」とカタコト英語で答えてしまったという情けない思い出があります。また、ポスター会場で「質問がある」と追いかけれ逃げ回ったこともあります。

でも、最後に嬉しいプレゼントもありました。「君のように英語がネイティブでない人の説明はわかりやすいから自信を持つといい。この学会の参加者は、殆どが英語圏の出身じゃないから、米国訛りでベラベラしゃべられると本当はわかり辛いんだよね。」

そうこうしているうちにコミュニケーションはとれるようになるものです。こんな、私でもなんとかありますので、どうか皆様、2年後は一緒に国際学会で発表して、日本人分析者の素晴らしさを海外の研究者に知ってもらいませんか？

[お詫び]

GC研究懇談会特別講演会の素晴らしい先生方のご講演に混じって、このような軽々しい話をしてしまうことをお詫びいたします。

でも、私の意図することが少しでも皆様にお伝えできましたらこんな嬉しいことはありません。

主題講演 3

「マンダムの体臭研究の知見と製品の香りについて」

(株式会社マンダム) 澤田 真希

マンダムの体臭研究の知見と製品の香りについて

株式会社マンダム 技術開発センター ボディケア製品開発室
澤田 真希（さわだ まき）

近年、夏場の気温の上昇や清潔意識の向上などにより男女問わず体臭に対する意識が高まっている。そこで我々は、体臭を抑制する効果の高いデオドラント製品を開発するため、嗅覚を用いた体臭評価を行うなど体臭成分に関する知見を蓄積してきた。

本講演では、体臭の特性からその発生要因、体臭成分の感じ方、さらにデオドラント製品などの製品の香り設計について紹介する。

・ニオイ物質と体臭の特性

体臭の発生は、多くの場合、汗腺や皮脂腺から分泌され、皮膚上に蓄積された汗や皮脂などの代謝物が皮膚常在菌によってさらに代謝され発生することが知られている。ヒトの汗腺や皮脂腺の分布は部位によって異なり、皮膚上に分泌される代謝物の組成も異なることから、頭部、腋窩、足裏など部位ごとに異なる臭気が生じる。

嗅覚測定法を用いて日本人の腋窩のニオイのタイプを分類した結果、主に Milk-like、Cumin-like、Acid-like の3タイプに大別された。中でも Cumin-like と Acid-like が臭気強度および不快度が高いことが明らかになった。また、頭部では Sweaty、Oily、Sebum に大別された。そのうち 40~50 歳代男性に特有の体臭は Oily であることを見出し、その主原因となる物質が「ジアセチル」であることを GG/MS/Olfactometry により特定した。

・体臭成分の感じ方

これまでに各部位の臭気を構成する主な成分として、足臭ではイソ吉草酸、50 歳代以降の胸部や背中から発生する加齢臭では 2-ノネナール、40 歳代男性の主に頭部から発生するアブラ様の臭気ではジアセチルが同定されている。これらの体臭成分のうち、ミドル男性特有の臭気を再現したジアセチルを含む頭部モデル臭は、男性より女性の方が不快に感じていた。そこで、男女間や年代間における体臭の感じ方の違いを明らかにするため、ジアセチル、イソ吉草酸、2-ノネナールの3つの臭気成分の嗅覚閾値を測定した。その結果、2-ノネナールは男女間で閾値に差異がなく、イソ吉草酸は男性より女性の方が閾値が低い傾向がみられた。一方、ジアセチルの閾値は個人差が非常に大きく、閾値の低い群と閾値の高い群が存在した。最も閾値の高い人は、最も閾値の低い人が判別できる濃度の 10000 倍の濃度でもニオイを判別することができなかった。

・デオドラント製品の香り設計

デオドラント製品など体臭ケアを目的とした製品の香料設計においては、嗜好性の高さ

や爽快感などに加え、体臭由来の不快感を低減させ、心地よく使用できることが重要な要素である。香料により不快感を低減させる手法は大きく分けて二つある。一つは古くから用いられる手法で、不快感を感じさせないくらい強い香りで覆い隠す（マスキング）手法である。もう一つは、不快感を香りの構成成分の一つとして取り込むような調和性の高い（ペアリング、マッチング）香料を用いる手法である。特に強い香りを好まない日本人には、後者は有効な手法だと考える。

デオドラント製品の香り設計において、体臭研究の知見を基に Cumin-like、Acid-like のモデル臭を作製し、香料と混合した際の臭気の不快感を評価した結果を紹介する。

ニオイの特性

1. ニオイ物質は
2. ヒトが感じる臭気のほとんどは、
3. 複合臭は、単なる加算ではなく、**相乗効果**が起こる。
イソキサリル (揮発性のニオイ) + パピリン (揮発性) = フラ
4. 複合臭は、ニオイ強度の**相乗効果**が起こる。

体臭は、ヒトの代謝物を細菌が代謝した結果

ヒトの代謝 → 代謝物 (2500種以上) → 汗・皮脂 → 細菌の代謝 → ニオイ

部位による分泌物の違いがニオイの部位差に

- ワキのニオイ**: アポクリン汗、エクリン汗・皮脂 ⇒ スパイシー ⇒ 酸っぱい
- 頭皮臭**: エクリン汗・皮脂 ⇒ 酸っぱい ⇒ アブラっぽい
- 加齢臭**: 皮脂 ⇒ 酸っぱい
- 体臭**: エクリン汗・皮脂 ⇒ 酸っぱい
- 足臭**: エクリン汗 ⇒ 酸っぱい ⇒ 糊臭のような

ニオイの測定方法

① **機器測定法**
: GC-MS (ガスクロマトグラフ-質量分析計)
GC-MS + Olfactometry

GCカラムで分離されたニオイ化合物において、MSフラグメントの取得 (成分同定) と臭気の確認を同時にできる機器

② **嗅覚測定法**
: 人間の鼻 アミルメルカプタン: 0.00000078ppm
東京ドーム内にアミルメルカプタンをわずかに散布し、ドーム内が臭ってしまう。

人間の鼻は、GCなど最新の分析機器よりも高感度に、ニオイを検出することができる。

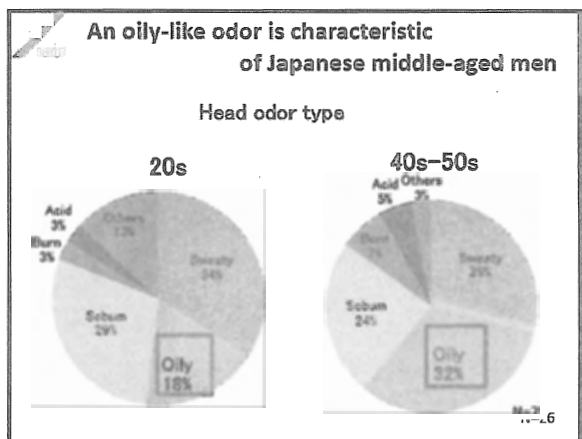
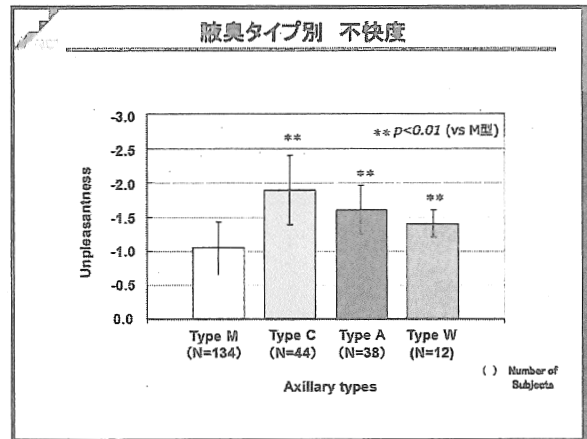
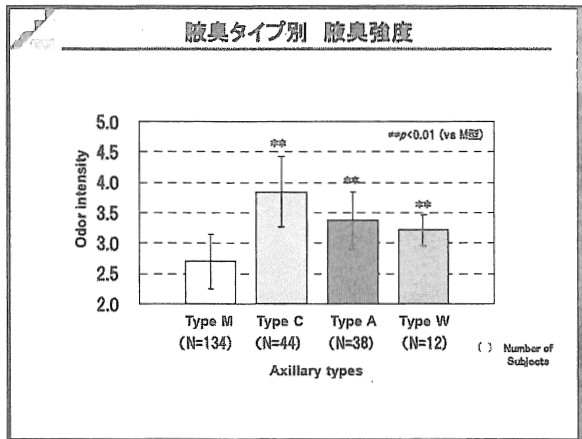
嗅覚測定法

Head		Axillae		Feet	
ニオイの質		ニオイ強度		不快度	
Odor type	Odor quality	Intensity	Intensity	Scale	Personal dislike (pleasant/unpleasant)
Type 1	Sweaty-like odor	+	None	1	Very pleasant
Type 2	Sabun-like odor	+	Very weak (detection threshold)	2	Pleasant
Type 3	Oil-like odor	+	Weak (detection threshold)	3	Slightly pleasant
Type 4	Stale-like odor	+	Easily perceptible	4	Neither pleasant or unpleasant
Type 5	Cumy-like odor	+	Strong	5	Slightly unpleasant
Type 6	Acid-like odor	+	Very strong	6	Unpleasant
Type 7	Enriching odor	-		7	Very unpleasant
Type 8	Isovaleric acid-like odor	-		8	

日本人男性の腋臭タイプ分類

n=118 18-68歳 両腋臭検出者 夏季、昼間24時間検出評価

- M型(ミルク糖)
- C型(カレーのスパイス臭)
- A型(酸っぱい)
- W型(水っぽい)
- E型(蒸した肉脂臭)
- K型(カビ臭)
- F型(酸、サビ臭)



Diacetyl and Medium chain fatty acids are key contributors to the oily note

Odor compounds content vs. Odor intensity or Oily odor composition

Odorants		Odor intensity	Oily odor composition	Sweat odor composition
		rs	rs	rs
Ketone	Diacetyl	0.68	0.57	0.03
	Acetic acid	-0.05	0.41	0.51
	Propionic acid	0.11	0.47	0.58
	Butanoic acid	0.00	0.29	0.65
	Valeric acid	0.31	0.34	0.63
Acid	Isovaleric acid	0.12	0.25	0.69
	Heptanoic acid	0.46	0.60	0.49
	Octanoic acid	0.51	0.55	0.49
	Nonanoic acid	0.38	0.81	0.27
	Decanoic acid	0.58	0.73	-0.04
Aldehyde	t-2-Nonenal	0.12	0.06	-0.24

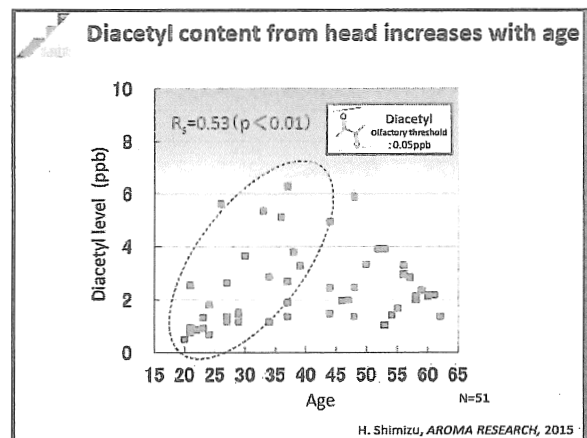
Spearman's correlation coefficient by rank test (n=13)

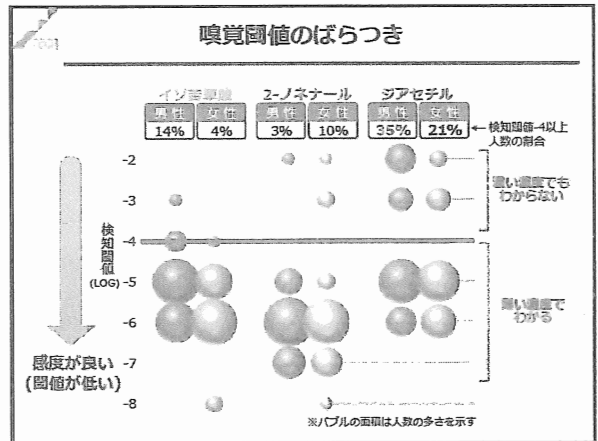
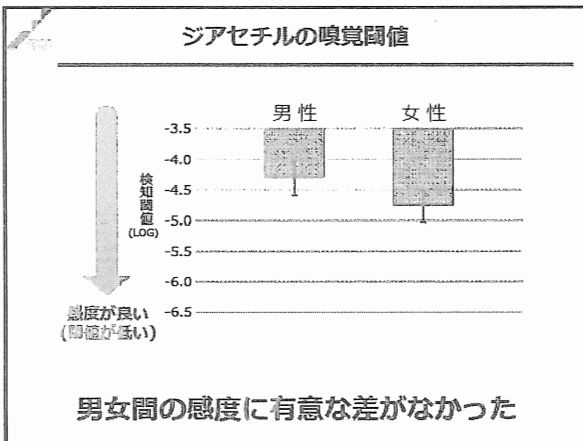
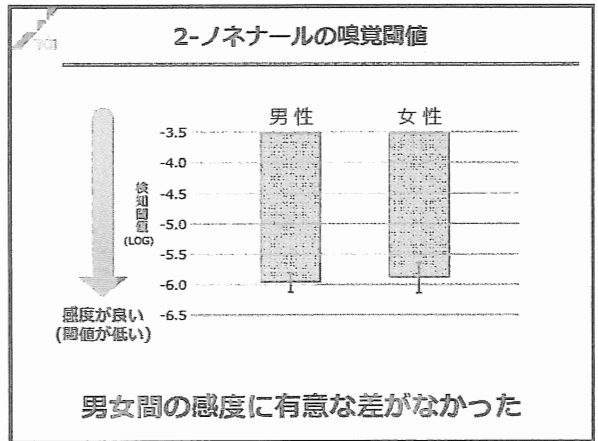
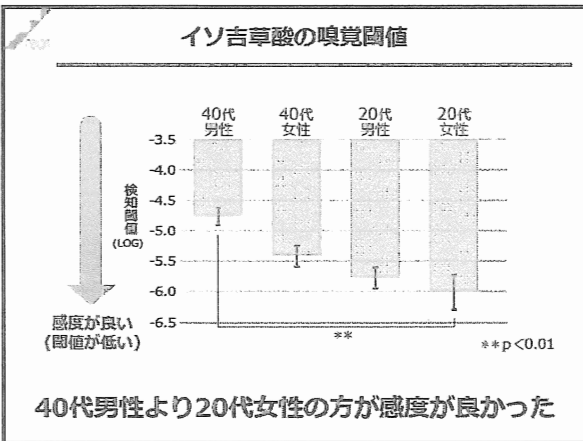
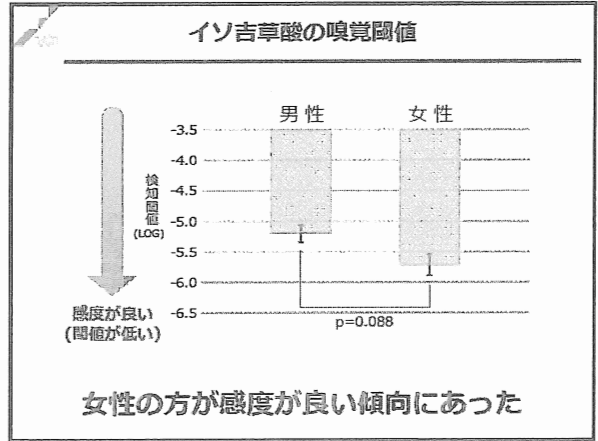
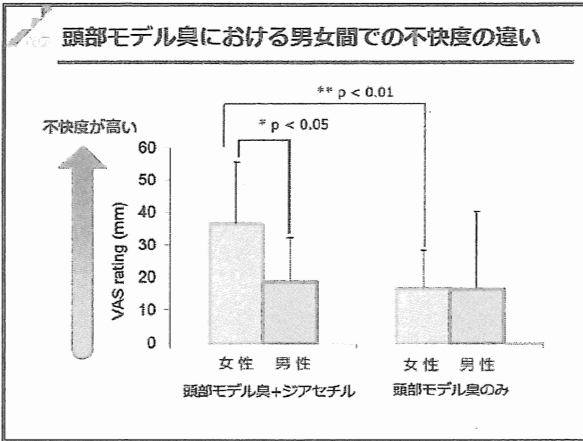
Diacetyl possesses a very low olfactory threshold value

- DIACETYL -

- Structure: CC(=O)C
- MW : 86.09
- bp : 88°C
- Odor : butter
- Olfactory threshold : 0.05ppb
- Occurrence: butter, yogurt, vinegar, cheese

Compounds	Threshold (ppb, in air)	Body region
Acetic acid	6.0	axillae
Isovaleric acid	0.078	feet
Methyl mercaptan	0.070	mouth





技術講演 2

3. 「AEI イオン源における異臭成分の定性感度」

(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) 土屋 文彦

4. 「GC-TOFMS を用いた生活の中のさまざまな臭いの網羅的解析」

(LECO ジャパン合同会社) 樺島 文恵

5. 「新規捕集剤ソルブスターを用いた分析事例の紹介」

(アステック株式会社) 中台 遼平

6. 「イオン液体を液相に用いたユニークな GC カラム」

(シグマアルドリッチジャパン) 植田 泰輔

AEI イオン源における異臭成分の定性感度

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
クロマトグラフィー & MS 事業部 アプリケーション部
土屋 文彦 (つちや ふみひこ)

◆はじめに

異臭析は食品に限らず機器からのアウトガスや大気、建築分野など幅広く行われる重要な分析テーマであることから、測定に関わる技術として臭気化合物の捕集方法、ガスクロマトグラフの分離技術、検出器の開発など性能の向上が加速的に進められてきました。こうした流れの中、ガスクロマトグラフ質量分析装置における高感度化の一環としてイオン源の改良も進み、近年では従来型に対し 10 倍以上の感度向上が得られるものが報告されています。

人間が不快に感じる臭気化合物の中には閾値の低いものが多数見られます。例えばかび臭の原因化合物として知られるジェオスミンの閾値は 10 ng/L (10ppt) とされていますが、このような非常に微量であっても人間の嗅覚として感知されやすい化合物については、非常に低濃度域での監視基準が課せられます。例えば水質基準のかび臭分析で 1 ppt という定量下限が求められている事からもこの事実がうかがえます。

このような検査対象に対しては、SPME やパージ&トラップなどといった臭気化合物の捕集技術に加え、SIM などを使用したターゲット分析が用いられます。このため現在の技術においてもターゲット分析であれば十分にこれら低濃度の臭気化合物を検出する事が可能となっています。一方、食品などのクレーム品や、異臭騒ぎといった問題における原因化合物の探索などでは、ノンターゲットによる分析のアプローチと化合物の特定など定性情報を得る必要がある事からスキャン測定が多用されます。この際、スペクトルの違いを見極め、ライブラリサーチから正しい結果を導くための根拠として、その化合物固有のフラグメントイオンをできるだけ多く検出する必要があります。例えば、図-1 に示したジェオスミンのマススペクトルの例では、定量分析のモニタリングイオンとして使用される m/z 112 のイオンはこのスペクトル内では最も高い強度を示すイオンですが、定性に必要な微小なフラグメントイオンはこの m/z 112 のイオンの 5~20% の強度付近に存在します。このため信頼性の高いライブラリサーチ結果を得るためにはこれら微小なイオンを検出できる濃度設定が必要となります。また、スキャン測定は得られるシグナルの S/N 比が SIM に比べ低い事から、モードの違いによる GC/MS の検出感度の差を補うための、感度向上が求められます。本発表では、高感度イオン源として開発された AEI (Advanced EI) イオン源 (以下、「AEI」とする) についての定性感度を確認するため、従来型イオン源 (以下「ExtractaBrite」とする) との比較を交え考察します。

ジェオスミン

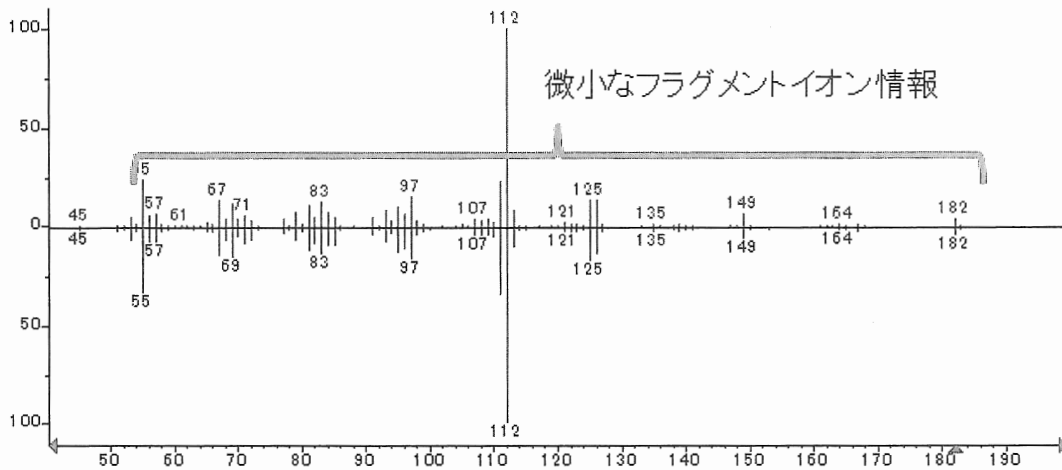


図-1 マススペクトル(EI)の例 (ジェオスミン)

◆AEI の特徴

AEI における従来のデザインからの主な改良点は、フィラメントの位置を変更し熱電子放出の方向をイオンボリュウムからレンズへの方に重ね合わせたことに加え、磁石を大型化し、電子ビームの収束性を従来型より高めた事です。

フィラメントの位置の変更により、イオン化に使われるイオンボリュウム内の空間が従来型に比べ大幅に増加するため、発生するイオンが増加し感度の向上が期待されます。

磁石はフィラメントから放出される熱電子の軌道の安定化に寄与します。この際、熱電子は磁力の影響により“らせん”状の軌道を描きながら試料ガスと接触しイオン化が行われます。AEI ではイオンビームの軌道が収束したことによりイオン源内部の汚染が軽減されるという利点が得られます。

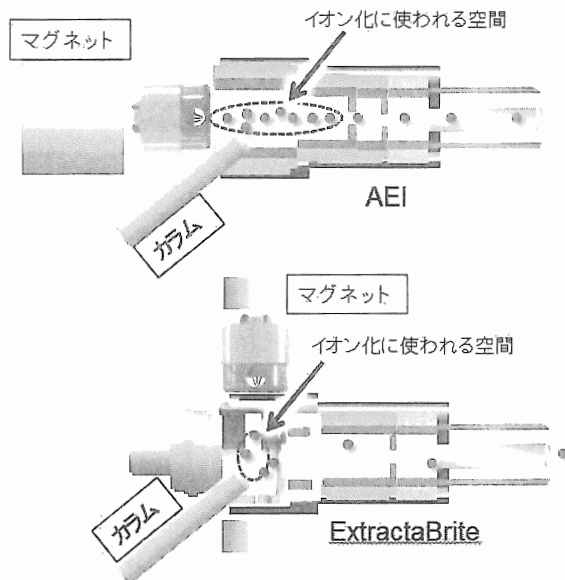


図-2 AEI (上) と ExtractaBrite (下)

◆試験内容

サンプル

市販ミネラルウォーター10 mLを3 gの塩化ナトリウムを入れた20 mLヘッドスペースバイアルに入れ、ジェオスミン（関東化学株式会社）を1 ppt, 5ppt, 10 ppt, 50 ppt及び100 ppt 溶液となるように添加しキャップをした後、十分に攪拌したものを作成しました。

測定および解析

測定には Thermo Scientific™ ISQ™ 7000 GC-MS システムを使用しました。サンプルからのジェオスミンの抽出には SPME を使用しました。また定性解析としては Thermo Scientific TraceFinder™ 4.1 ソフトウェアおよび Deconvolution Plugin 1.3 ソフトウェアを使用しました。

測定条件

● GC 条件

Column : TG-WAXMS 30 m, 0.25 mm I.D., 0.25 μm
Oven : 40°C (1 min) -8°C/min - 220°C (5 min)
Carrier Flow : 1.0 mL/min
Transfer Line Temp. : 220°C

● SPME 条件

抽出時間 : 60°C-30 分
ファイバー : 50/30 μm DVB/CAR/PDMS, 23G, 1 cm

● MS 条件

Ionization Mode : EI
Ion Source Temp. : 250°C
Electron energy : 70 eV (ExtractaBrite) / 50 eV (AEI)
Scan range : m/z 33~300

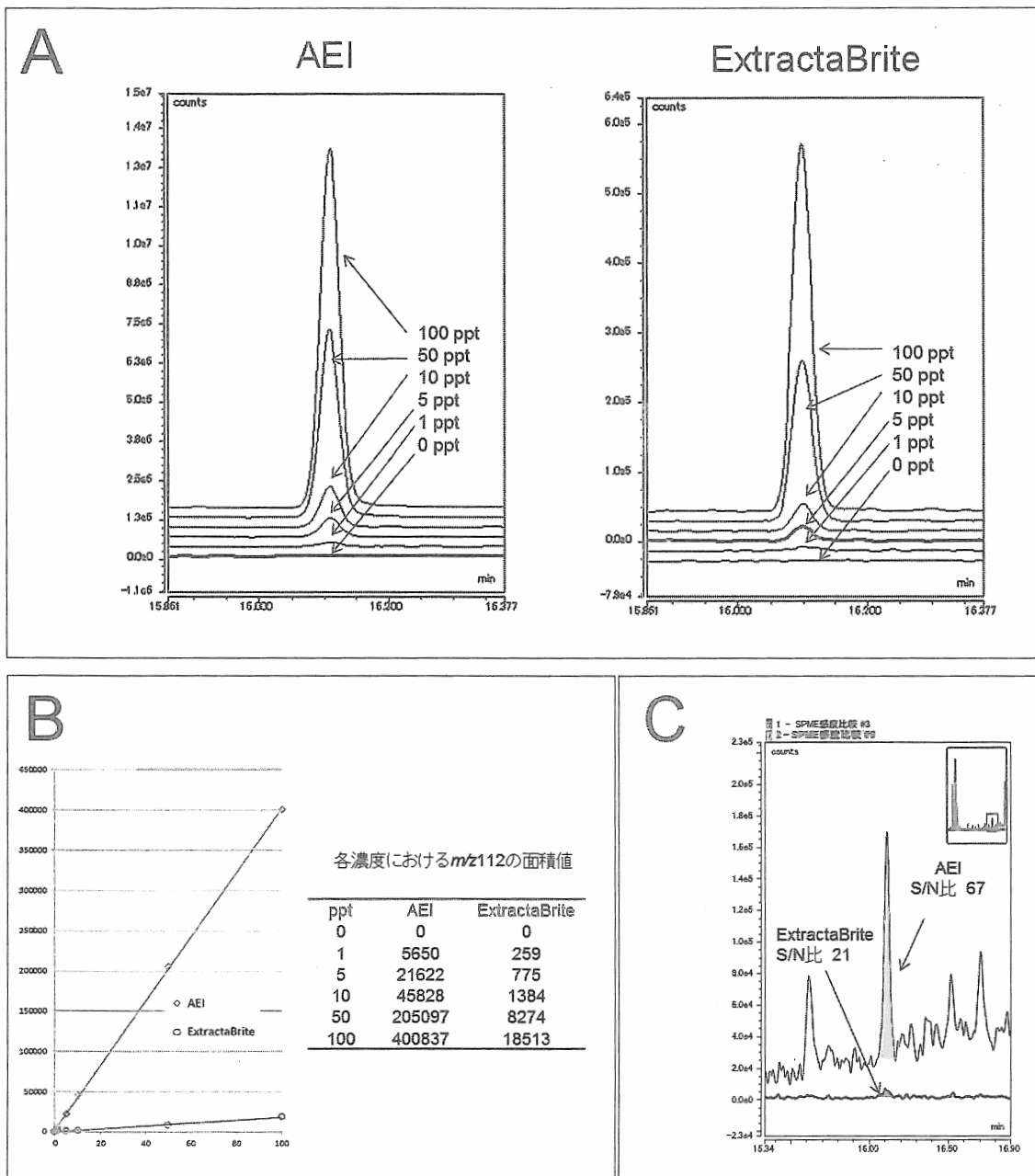


図-3 各ジェオスミン希釈系列における AEI と ExtractaBrite の感度比較 (m/z 112)
 A:各濃度における m/z 112 のオーバーレイ B:各ピーク面積のグラフおよび面積値
 C:1ppt におけるそれぞれのピーク及び S/N 比

◆AEI と ExtractaBrite の感度比較

今回確認したジェオスミン希釈系列に関する m/z 112 によるモニタリングの結果、AEI のピーク面積は概ね ExtractaBrite の 20 倍以上の感度向上が得られました(図-3A および B)。また、両イオン源共に 1 ppt においてもピークが検出されました(図-3 C)。

◆微小なフラグメントイオンについての感度比較

ライブラリヒットには、化合物が有する構造由来の複数のフラグメントイオンが検出される必要があります。

今回ジェオスミンのマススペクトルで観測される m/z 149 および m/z 182 について各濃度設定におけるクロマトグラムを確認した結果、ExtractaBrite では 50 ppt までピークが確認されました。一方、AEI では 10 ppt までピークが検出された事から、AEI により微小のシグナルの検出感度が向上しました。

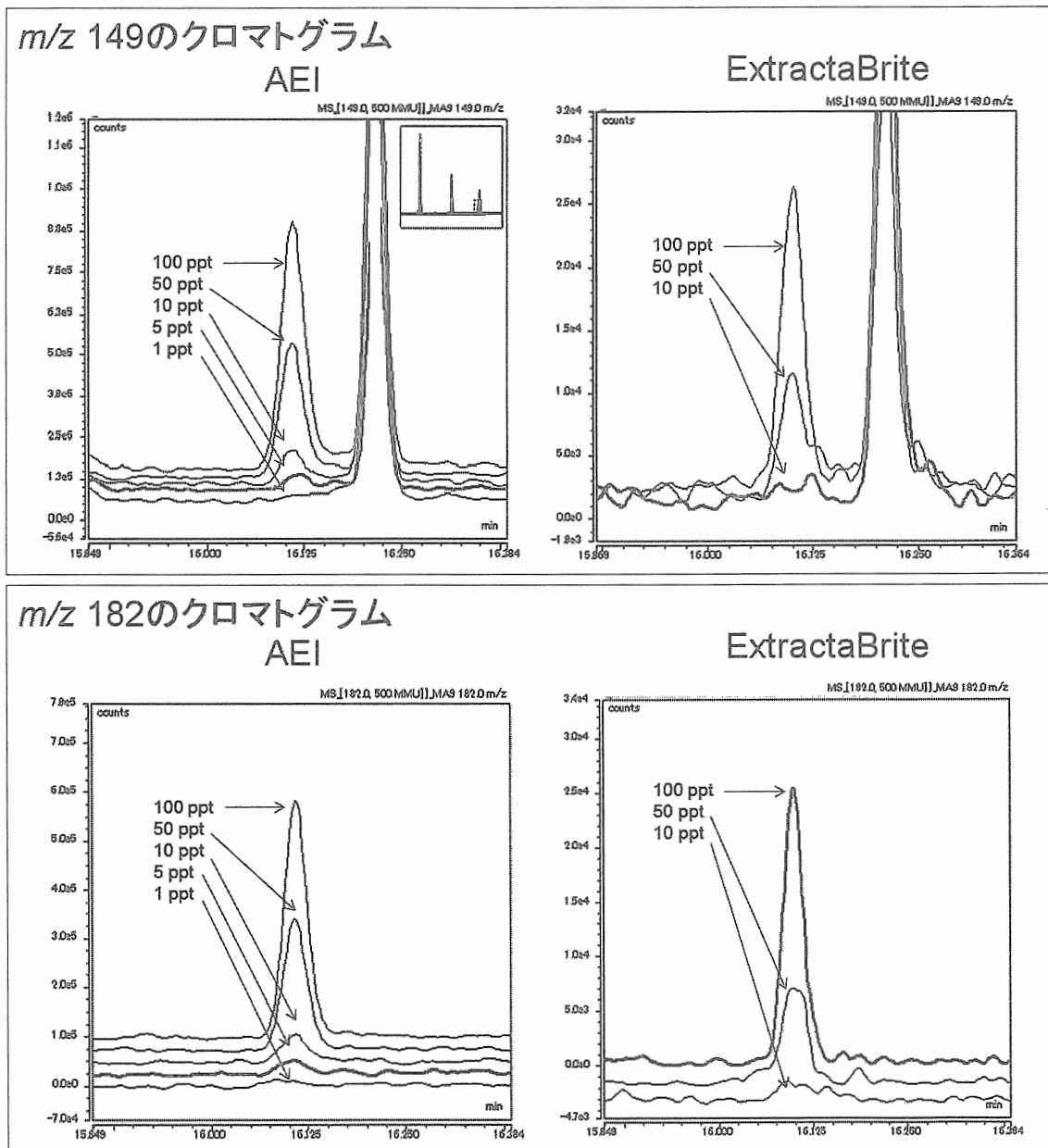


図-4 各ジェオスミン希釈系列における AEI と ExtractaBrite の感度比較 (m/z 149 及び m/z 182)

◆ライブラリサーチの結果

今回定性結果の評価は、人為的な操作によるばらつきを排除するためデコンボリューションによるライブラリサーチのSI(サーチインデックス)を用いました。AEIおよびExtractaBriteの結果では50 pptまでの濃度において800以上のSI値が得られました。一方、10 pptではAEIが800以上のSI値を維持しているのに対し、ExtractaBriteでは400以下までSI値が低下しました。この結果は微小なフラグメントイオンの感度比較で示されたピークの検出結果と一致しました。このことから、AEIはピーク面積を上昇させるだけでなく、定性分析においても感度を向上させることが確認されました。

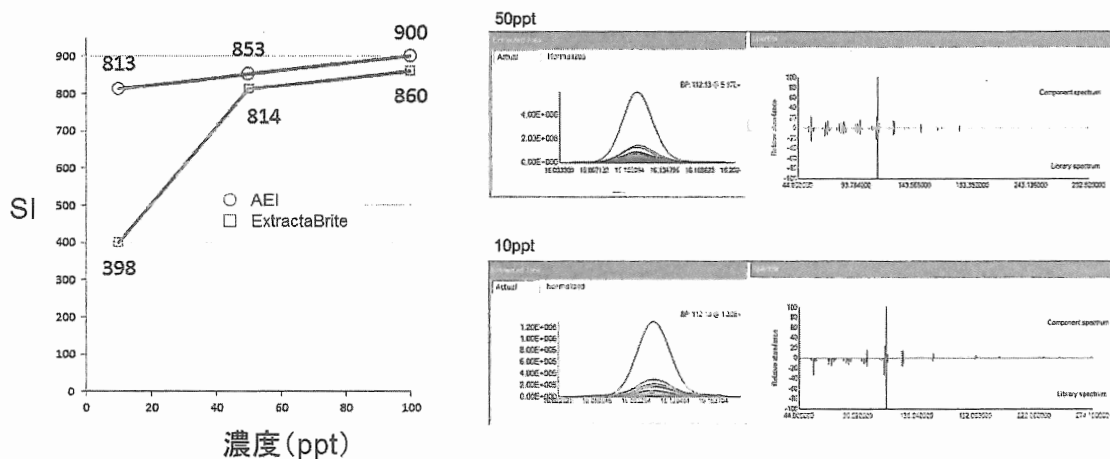


図-5 各濃度設定におけるSIの結果(左)とAEIのデコンボリューションスペクトル(右)

◆まとめ

- 高感度分析を目的として開発されたAEIの使用により、ジェオスミンではピーク面積が従来型のイオンソースに対し、20倍以上に増加しました。
- 定性分析で化合物の違いをスペクトル上で認識するためのフラグメントイオンが微小なものである場合、ライブラリヒットの下限値はこの微小なフラグメントイオンの検出下限に影響を受ける事が確認されました。
- AEIは定性分析においても感度向上の効果が得られる事が確認されました。

GC-TOFMS を用いた生活の中のさまざまな臭いの網羅的解析

(LECO ジャパン合同会社) ○樺島 文恵

【諸言】

生活空間にはさまざまなニオイが存在しており、発生源やその要因も多岐にわたっている。たとえば、寝室に漂う臭気要因としては、布団や枕やパジャマなどに染み付いた汗、体臭や口臭といった人から発せられる臭い、換気不足による部屋の湿気やカビによる臭い、ペットの臭いなどが考えられ、トイレに漂う臭気としては、排泄物や排泄時に飛び散ってしまった尿、カビなどが発生源として考えられる。臭気を抑制するためには、上記で挙げたような発生源を特定し、抑制していくことが最も効果的ではあるが、生活習慣上不可能な場合も多い。そのため、発生した臭気を効率よく捕集し、消臭または脱臭する手段が必要となる。手法としては、化学的消臭、物理的消臭、生物的消臭、感覚的消臭の 4 つに大別され、共通していることは対象となる臭気の構成成分を正確に把握しなければ、十分な消臭効果を発揮できないということである。現在、芳香消臭脱臭剤協議会の自主基準に基づく消臭剤または脱臭剤効果試験や日本電気工業会 JEM 1467「家庭用空気清浄機」付属書 1 に基づいた脱臭性能試験等による消臭および脱臭の効果についての評価が行われている。しかしながら、誰かの家を訪問した際にその家特有のニオイを感じるように、住まいに漂うニオイは、生活習慣や家族構成、間取り等から影響を受ける可能性があり、それらが混ざり合ってその家ならではの独特の匂いを構成していると考えられる。

そこで本検討では、家族構成や生活習慣の異なる 4 家庭の室内のニオイを網羅的に分析する手法を用いて、居住環境の差異が臭気成分の種類や構成に影響を与えるのか、共通する部分と異なる部分に着目しながら検証を試みた。

【実験】

住居のニオイの捕集手法

捕集を実施した場所は、各家庭のリビングルーム中央で行い、捕集方法としてシリカモノリス構造を持ち高い捕集効率を有するモノトラップ(Mono Trap DCC18 : GL サイエンス)を用いて室内空気中の成分を家族構成や生活環境の異なる 4 家庭で各 n=3 捕集を行った。また、分析対象である各家庭のニオイの構成に影響すると考えられるいくつかの因子についてヒアリングした。①家族構成 ②間取り ③生活習慣(ペットの有無、喫煙環境、部屋干しの有無、調理の頻度) また、本捕集条件の確認用として臭い物質の濃度が高いと考えられるゴミ箱、トイレ、洗濯槽内についても同様の手法により空気中成分の捕集を行った。

分析機器と分析条件

本検討では、分析手法としてより簡便な網羅的解析を目的とし、分析装置にはフルスペクトル取得での高感度分析を可能にする GC-TOFMS システム(Pegasus BT : LECO、Fig. 1)を用い、分離カラムには、Stabilwax-MS (RESTEK) 30 mを使用した。室内空気を捕集したモ

ノトラップは、加熱脱着導入を採用した。加熱脱着システムには、マルチショットパイロライザー (EGA/PY-3030D : フロンティア・ラボ) の熱脱着モードを使用し、50℃-30℃/min-250℃ (2 min) で熱脱着を行った。

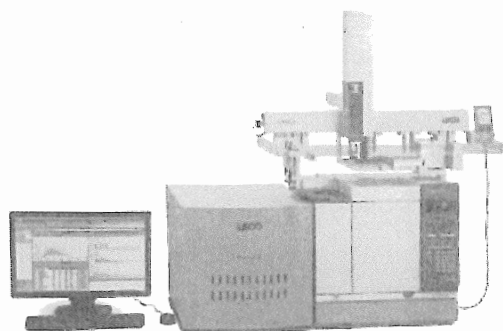


Fig. 1 ベンチトップ型 GC-TOFMS システム
Pegasus BT

GC-TOFMS Analytical Conditions	
Injection	Multi-Shot Pyrolyzer EGA/PY-3030D
Sampling	Mono Trap RGPS TD
Injection Volume	1.0 μ L
Inlet Mode	Split 1/20
Inlet Temperature	240°C
Carrier Gas	Helium, 1.0 mL/min
Column	Stabilizer-MS, 30 m x 0.25 mm ID, 0.25 μ m film thickness
Oven	40 °C (0.5 min) \rightarrow 10°C/min \rightarrow 240°C (10 min)
Transfer Line Temperature	240°C
Source Mode	EI
Source Temperature	230°C
Detector	LECO Pegasus BT Time-of-Flight Mass Spectrometer
Acquisition Rate	10 spectra/sec
Stored Mass Range	35 to 550 u
Data Processing	
Software	ChromaTOF ver.5.03
Peak Finding	Non-Target Deconvolution
Library	Wiley9, NIST14, FFWSC

Fig. 2 分析条件

解析方法

ChromaTOF® ソフトウェア (LECO) に標準搭載されているデコンボリューション機能 (Fig. 3) による自動解析システムを用いて、共溶出成分を含む全ピークの分離、スペクトル抽出およびライブラリー照合を行った。近年注目が高まるデコンボリューションを正確に行うためには、スペクトル取得の速さや四重極型質量分析装置のようなスキューイングが起きないことから飛行時間型質量分析装置を用いることが重要である。高品質なマススペクトルを取得することができる Pegasus BT システムによる新しいデコンボリューション (Non-Target Deconvolution) は、ライブラリーとの照合率を向上させ、ノンターゲット分析において、より正確な化合物の定性を行うことを可能にする。

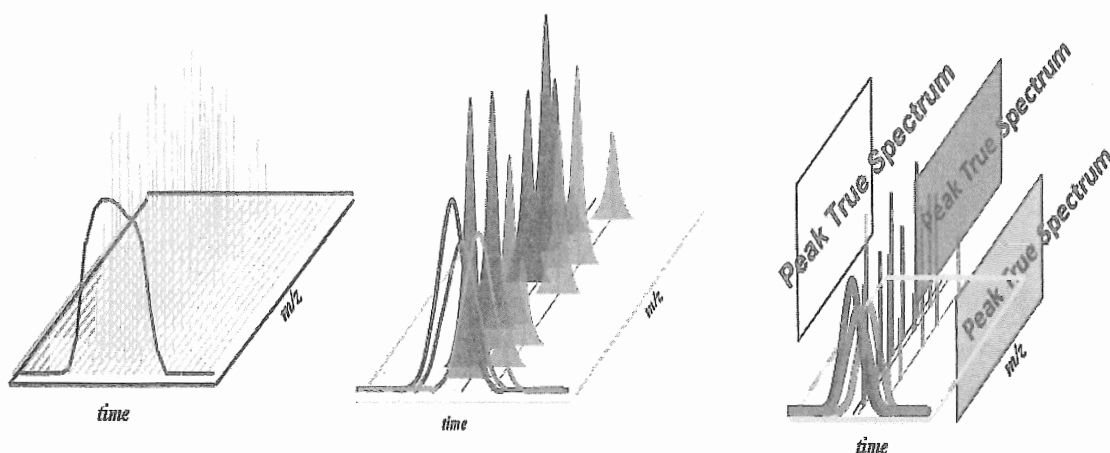


Fig. 3 デコンボリューションの仕組み

さらに、4家庭各 n=3 の計 12 データのアライメントを行い、検出された化合物について統計的解析手法により、検体間比較および共通する成分とそれぞれの家庭における特徴的な成分の抽出を行った。

【結果と考察】

包括的キャラクタリゼーション

LECO 社製の ChromaTOF ソフトウェアの自動解析機能を用いて、各試料から SN100 以上のピークが約 100~500 ピーク検出され室内空气中の複雑なピーク成分の詳細な定性分析を行うことができた。多くの共溶出ピークがデコンボリューションにより分離され、抽出した正確マススペクトルから高い精度でライブラリーによる定性を行うことが可能だった。また、本分析では使用していないが、におい嗅ぎ装置を使用した場合、目的とする臭いが1つの化合物によって特徴づけられているのか、いくつかの化合物による複数のにおい成分が重なり合った複合臭であるかを判別するために、デコンボリューションは必要不可欠となる。

さらに、フルスペクトル取得によるノンターゲット分析を行うことで、ニオイ全体の構成を把握することが可能になる。ニオイは、それらを構成する化合物の量的なバランスが変わってくると、印象(質)も変化し、バランスが悪くなり異臭/悪臭となって感じるようになる場合もある。このようにニオイの分析において、構成される化合物の質と量およびそのバランスを分析することは非常に重要であり、従来ターゲット分析が主であるオフフレーバー(異臭)原因解析分野においても、全構成成分の組成比を把握し、化合物同士の相互作用を解析することへの重要性が高まっている。ChromaTOF ソフトウェアでは、デコンボリューション後の TIC によるエリア値算出も可能であり、ニオイに含まれる全化合物のエリア値比較による組成比を簡単に算出することは、ニオイ全体の構成を捉えるために非常に有用である。

本検討で使用した Pegasus BT TOFMS システムは、一般的な四重極型 MS の SIM モードと同等の感度でフル質量スペクトルの取得が可能であり、異臭やアレルゲン物質などのターゲット分析とノンターゲット分析による試料全体の詳細な組成解析を1回の分析で完了することができ、「ニオイは異なっているけれども、スクリーニング化合物の強度には違いがない」といった場合にも豊富な情報から原因を明らかにすることが可能である。

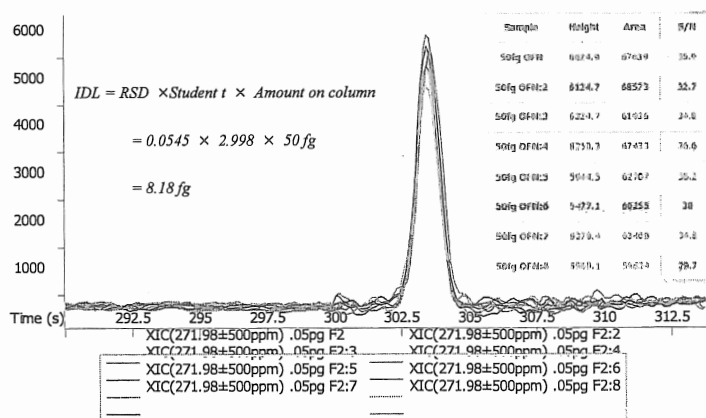


Fig. 4 Pegasus BT GC-TOFMS の感度

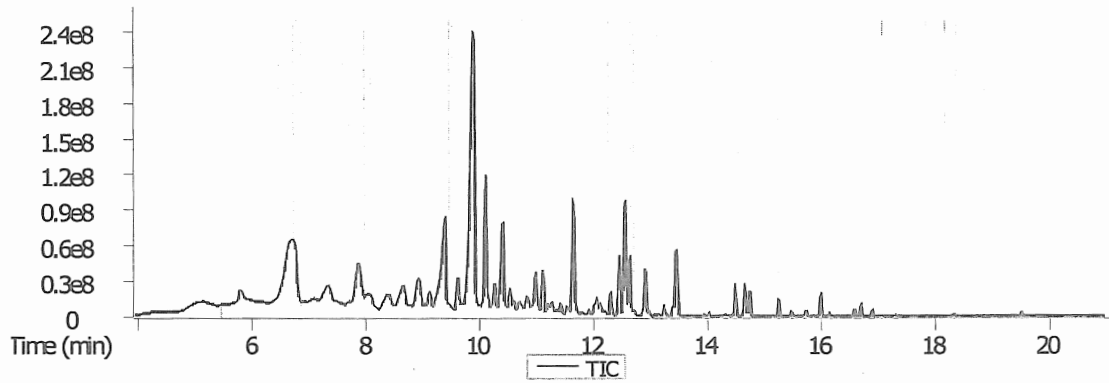


Fig. 5 ゴミ箱内の臭い TIC

ゴミ箱内の空気を捕集したサンプルからは、約 400 ピークが検出された。このゴミ箱には、生ごみ、生活ごみ以外にタバコの吸い殻 1 本がビニール袋に入れ封をした状態で捨ててあり、デコンボリューションによりタバコ由来成分であるニコチンの検出も確認された。

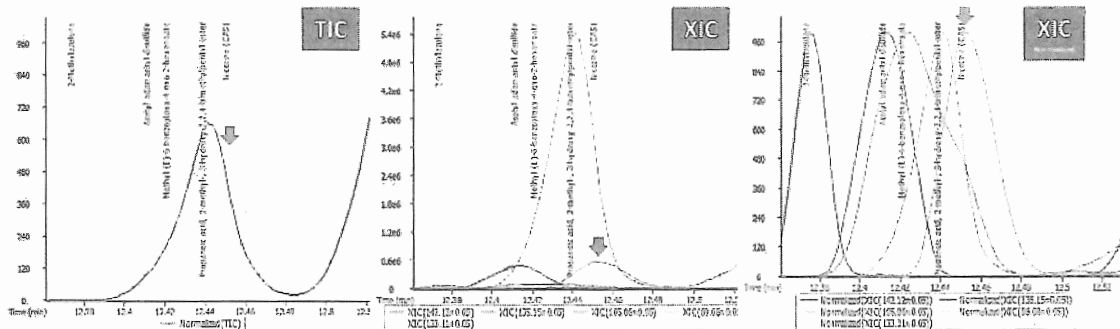
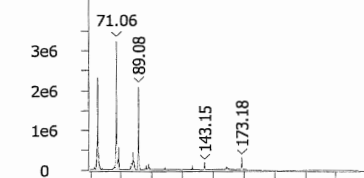
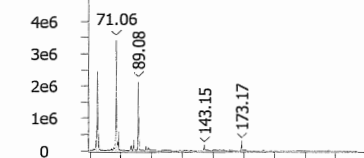


Fig. 6 ニコチン検出位置の TIC と共溶出ピーク

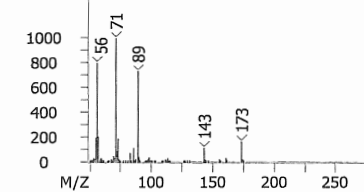
Caliper - sample "T", 12.4417 min - (12.4792 min + 12.4042 min), Height (Counts)



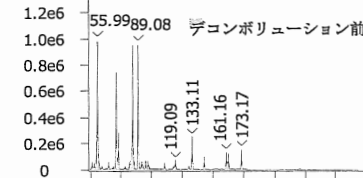
Peak True - sample "T", Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-, 2,2,4-trimethylpentyl ester, at 12.4413 min, Height (Counts)



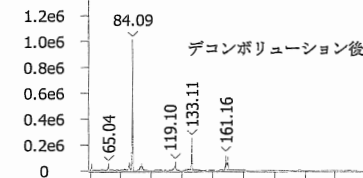
Library Hit - Similarity: 843 - Library: mainlib - Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-, 2,2,4-trimethylpentyl ester, A (CAS), Abundance



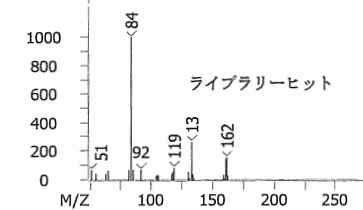
Caliper - sample "T", 12.4521 min - (12.4958 min + 12.4083 min), Height (Counts)



Peak True - sample "T", Nicotine (CAS), at 12.4527 min, Height (Counts)



Library Hit - Similarity: 833 - Library: Wiley9 - Nicotine



デコンボリューション前のマススペクトルには、手前に共溶出している Propanoic acid, 2-methyl-, 3-hydroxy-2, 2, 4-trimethylpentyl ester のピークが持つ m/z 71, 89, 173 などの影響が多く表れていますが、デコンボリューション後にはそれらは除かれ、高い一致率で Nicotine と同定することができた。

Fig. 7 デコンボリューション前とデコンボリューション後のマススペクトル

データアライメント～統計的解析手法

デコンボリューション機能による自動ピーク検出、およびライブラリーによる定性を行った4家庭各 n=3 の合計 12 データについて、検体間比較を行う Statistical Compare ソフトウェア (LECO) によるデータアライメントおよび全検出化合物の分散比に基づく Fisher Ratio 値の算出を行った。さらに Fisher Ratio 値上位 300 化合物を用いた多変量解結果から、4 家庭間で共通して検出された化合物や各家庭に特徴的な化合物の抽出を容易に行うことが可能だった。家庭におけるおのいの構成成分は、アルデヒド類や脂肪酸類などの共通する化合物も確認したが、4 家庭それぞれに異なっており、各家庭における特徴的な成分は、家族構成や生活習慣が大いに影響していると考えられた。

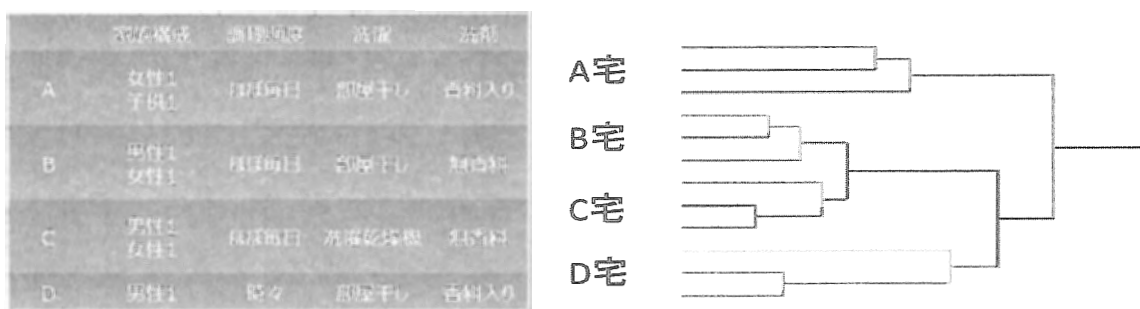


Fig. 8 各家庭の生活環境と分析結果のクラスター解析による系統樹

また、A 宅では、香料入り洗濯洗剤および柔軟剤を使用しており、ほぼ毎日の頻度で洗濯、部屋干しを行っていた。結果、捕集された室内空気のカロマトグラムは、洗濯槽内の捕集空気のカロマトグラムパターンと類似度が高く、洗濯洗剤や柔軟剤の香料成分の影響が顕著に表れていた。

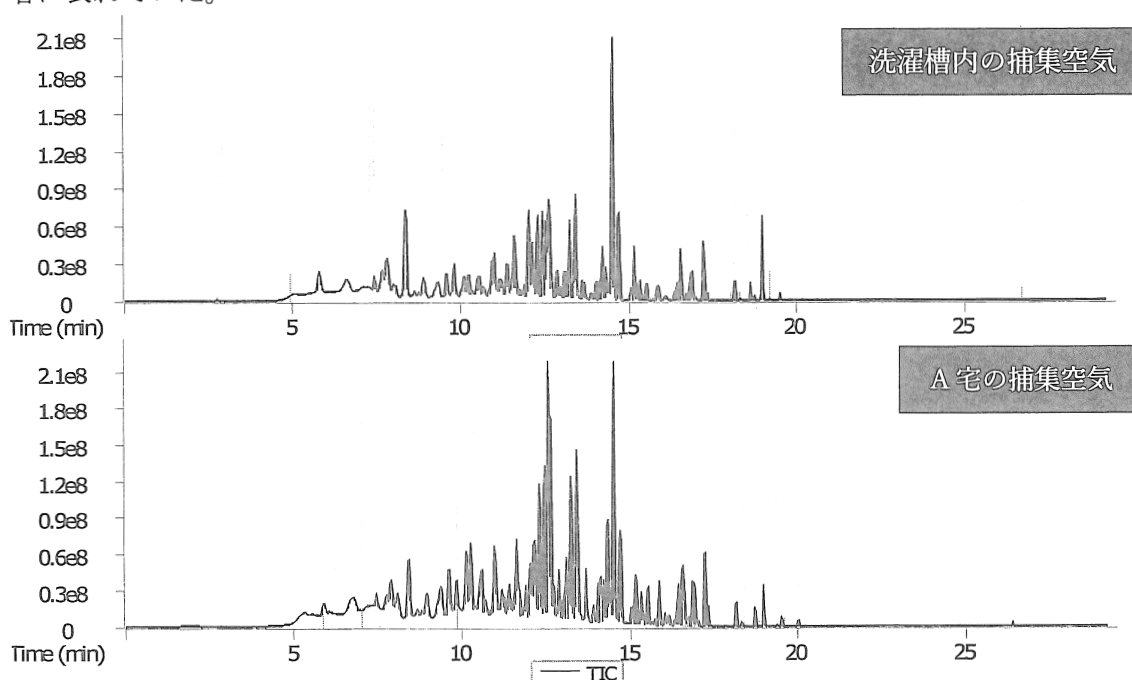


Fig. 9 洗濯槽内と A 宅の捕集空気のカロマトグラム比較

【結言】

すべての家庭から検出された化合物としては、アルデヒド類が多く、これらは人体由来の皮脂や調理時の油の酸化から生じていると推定できた。次いで、脂肪酸類も共通して多く検出されており、これらも人体由来や生ごみなどが原因と考えられた。D 宅では、脂肪酸類のピーク強度が他のピークと比較して少なかったが、要因として捕集期間中のほとんどが不在であったことが考えられた。各家庭に特徴的な成分としては、A 宅ではエステル類が多く、これらは前述したように洗濯洗剤および柔軟剤から生じていることが示唆された。また D 宅においてもいくつかの香料成分が確認されており、これらも同様に洗濯洗剤や消臭剤由来成分であると考えられた。

今回の捕集方法では、捕集場所の体積を考慮に入れてなかったため、4 家庭での捕集成分濃度に差がみられた。しかしながら、家庭における空気をモノトラップで捕集し、GC-TOFMS 分析を行うという手法は、非常に簡便でありながら 4 家庭それぞれの特徴を捉えることが可能であり、悪臭原因の追究はもちろんのこと、ニオイを構成するすべての成分を網羅的に把握することは、より消臭効果の高い消臭剤や脱臭剤の開発にも有用であると考えられる。また、本検討で用いた Pegasus BT GC-TOFMS のデコンボリューション機能は、家庭のニオイを構成する多種多様な共溶出した成分を分離、検出するために非常に重要であり、正確に構成全体を把握するために必要不可欠であった。本ワークフローは、生活におけるさまざまな場所やモノのニオイについて応用が可能であり、成分を特定せずニオイ全体にアプローチすることができるため、新たなニオイ成分の発見も期待できる。

〒105-0014 東京都港区芝 2-13-4 住友不動産芝ビル 4 号館

Phone: 03-6891-5800, FAX: 03-6891-5801



Email: fumie_kabashima@leco.com

www.leco.com

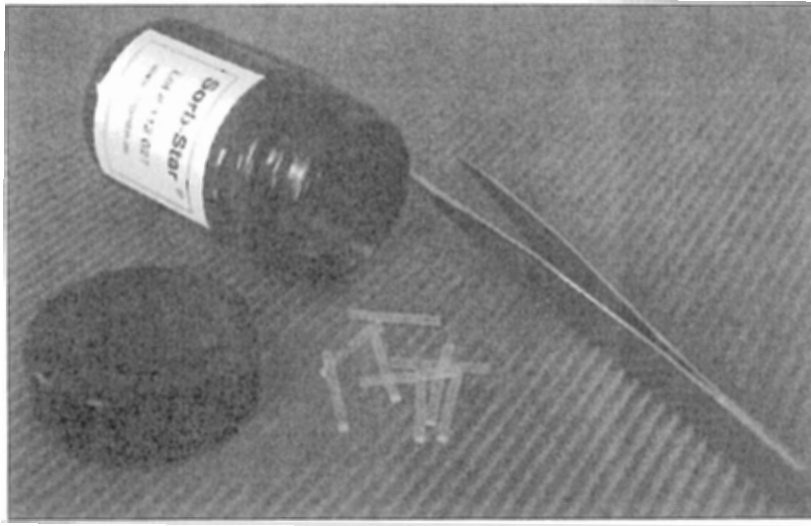
新規捕集剤ソルブスターを用いた分析事例の紹介

アステック株式会社 応用化学事業部
中台 遼平

[発表内容]

IMT社製ソルブスターは、非常に高い収着容積を有するシリコーン系ポリマーで特に微量分析のために開発され、さまざまなサンプリング方法が可能です。ヘッドスペース法、パッシブ法そして液体サンプルに直接入れて濃縮する方法です。分析は、サーマルディソーパーを備えたGC-MSまたは熱不安定性物質の場合、抽出してHPLC-MSによって測定する事が出来ます。

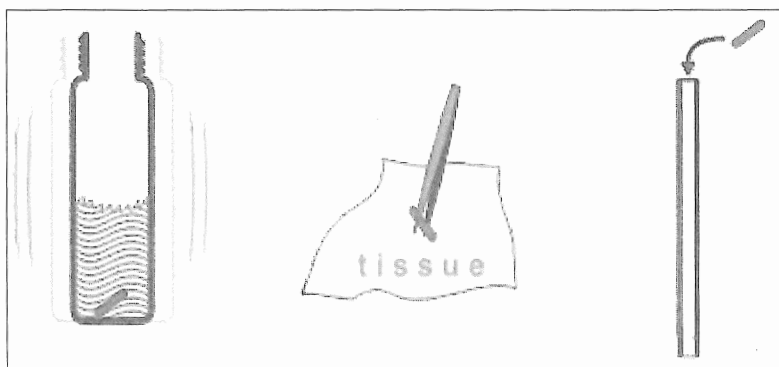
本発表ではソルブスターの紹介とソルブスターをオレンジジュースに入れて成分を吸着させ、サーマルディソーパーを備えたGC-MSで測定した結果をご紹介します。



長さ20mmソルブスター

[前処理条件]

オレンジジュース 20mLをメタノール洗浄した容器に入れ、攪拌子・ソルブスター（20mm 1本）を入れ、一晩、攪拌しました。ソルブスターを取り出しキムワイプで拭き取りサーマルディソーパー付きGC-MSで測定しました。



前処理の様子

[測定条件]

加熱脱着： Markes社製 ULTRA-xr（オートサンプラー）、UNITY-xr（加熱脱着装置）

GC： Thermo Fisher Scientific社製 TRACE 1310 GC

MS： Thermo Fisher Scientific社製TSQ9000

（トリプル四重極GC-MS/MSをシングルモードで使用）

加熱脱着

チューブ脱着時流量：He, 30 mL/min.

チューブ脱着時加熱温度：230 °C, 10 min.

コールドトラップ管脱着時加熱温度：250 °C、3 min.

コールドトラップ管脱着時流量：20 mL/min.

トランスファーライン温度：230 °C

GC

カラム：TG-WAXMS 30 m X 0.25 mm I.D., FT = 0.25 μ m（ThermoScientific 製）

オープン温度：50 °C（3 min.） \rightarrow 5.0 °C/min. \rightarrow 230 °C（10 min.）

キャリアーガス：He 1.0 mL/min., 定流量モード

MS

イオン化：EI

イオン化電流：50 μ A

イオン化電圧：70 eV

イオンソース温度：250 °C

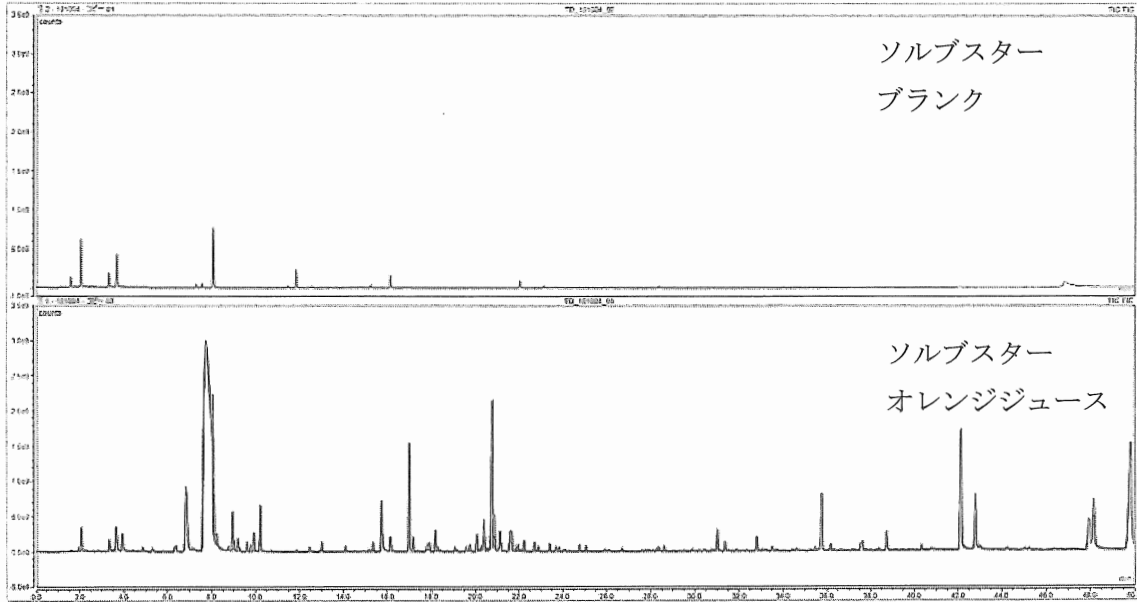
インターフェース温度：230 °C

スキャンイベント：Full scan MS, m/z 30-500

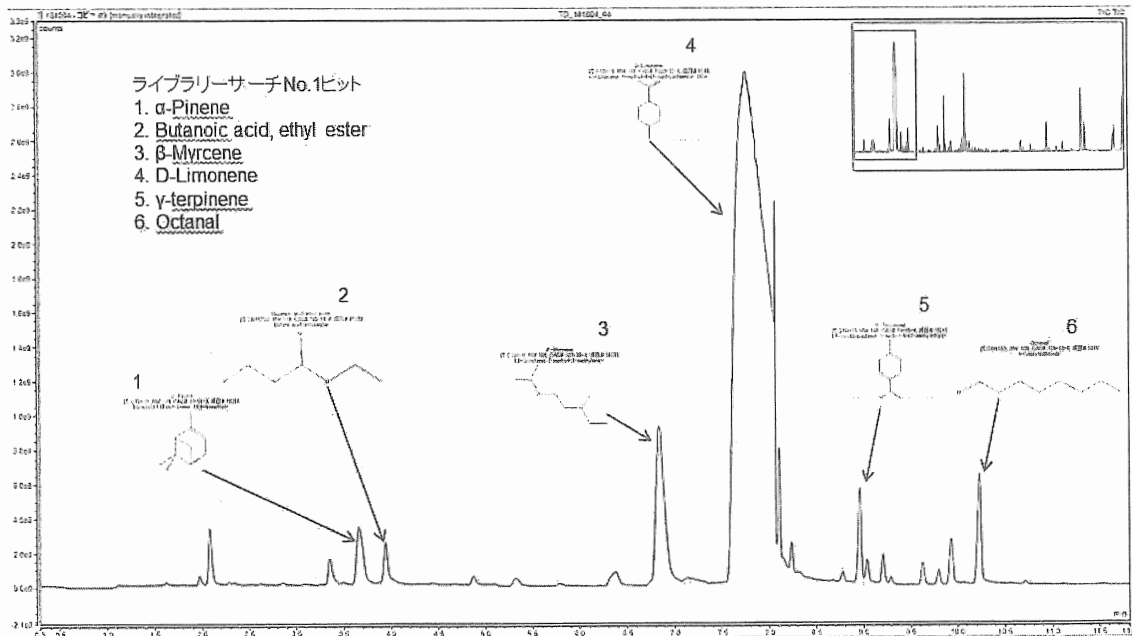
[測定結果]

以下のようなクロマトグラムを得ることが出来ました。

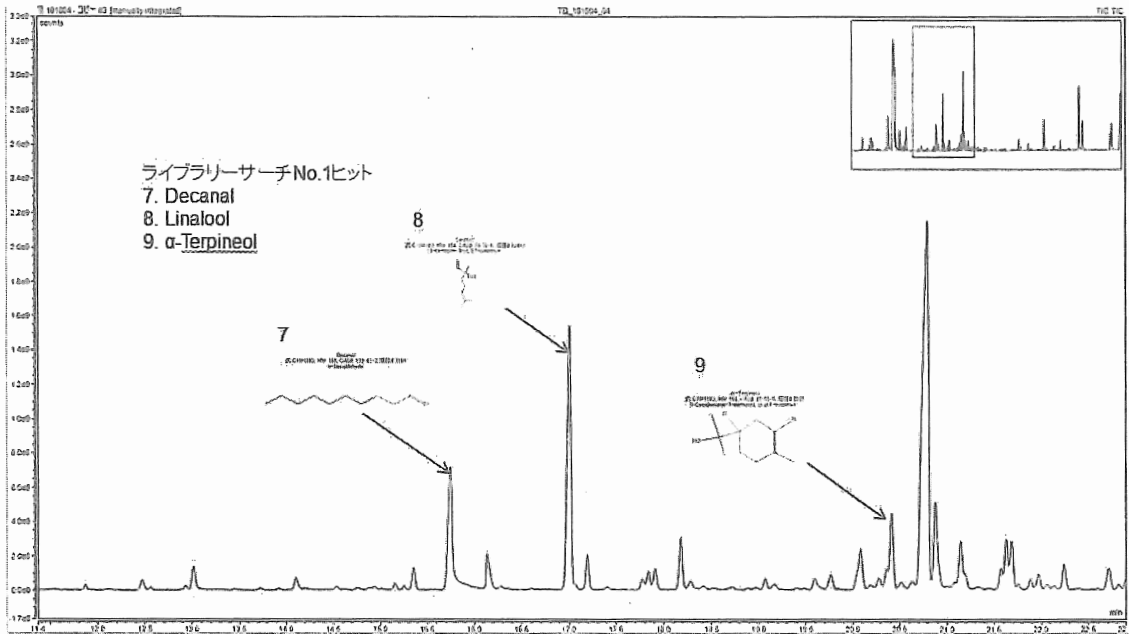
ライブラリーサーチの結果、 α -Pineneや β -Myrceneなどのオレンジジュース由来と思われる化合物を検出することが出来ました。



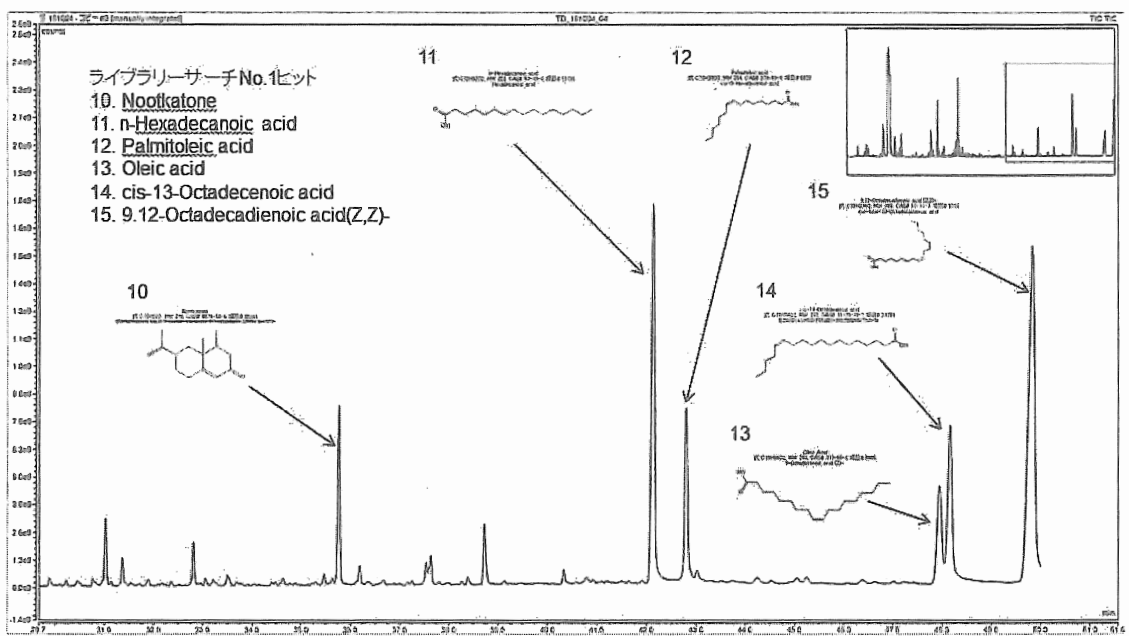
クロマトグラム



主なピークのライブラリーサーチ結果1/3 (オレンジジュース)

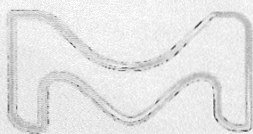


主なピークのライブラリーサーチ結果2/3 (オレンジジュース)



主なピークのライブラリーサーチ結果3/3 (オレンジジュース)

イオン液体を液相に用いた ユニークなGCカラム



The first product of this kind, available in manufacturing in the U.S. and Canada.

2018年12月5日
ガスクロマトグラフィー研究会特別講演会

シグマアルドリッチジャパン
アドバンスアナリティカル&インダストリアル
テストング事業部
マーケティング担当 植田泰輔
taisuke.ueda@merckgroup.com

Supelco
Analytical Products

イオン液体とは？

イオン液体とは

- 幅広い温度範囲で液体として存在する塩
- イオンのみからなる液体
- 有機カチオンと有機もしくは無機アニオンのいずれかが存在。
- 一般に100°C以下の融点を有する塩をイオン液体 (IL) と定義

イオン液体の特長

- 一般に、-30°C以上~+300°C以下の温度域でも液体状を維持する。
- +400°Cでも物性変化が少なく、耐熱性が高い。
- 蒸気圧が極めて低い。
- 一般に不揮発性であり、化学反応後の分離・再利用が容易。
- 不燃性
- イオンの種類選択によって、溶解性にさまざまな特性を持たせることが可能。
- 水も有機溶媒とも溶けあわない。
- 水でもなく有機溶媒でもない「第3の液体」とも呼ばれることがある。



イオン液体の活用事例

MERCK

<p>分離・精製</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ガス分離 ・抽出、抽出蒸留 ・分離膜 ・重金属抽出 ・放射性廃棄物処理 	<p>分析</p> <ul style="list-style-type: none"> ・MALDI-TOF マトリクス ・GC, LC, SFC 固定相 ・LC 移動相 ・GC ヘッドスペース監視 	<p>化学合成</p> <ul style="list-style-type: none"> ・グリーン溶媒 ・触媒 ・高分子合成
<p>電解質</p> <ul style="list-style-type: none"> ・燃料電池 ・スーパーキャパシタ ・色素増感太陽電池 ・金属表面処理 	<p>イオン液体</p> <ul style="list-style-type: none"> ・蒸気圧が低い ・液体として存在する温度範囲が広い ・熱安定性・電気化学的安定性が高い ・電気伝導性が高い ・ある種の物質をよく溶かす 	<p>機能性材料</p> <ul style="list-style-type: none"> ・アクチュエーター ・イオンゲル ・センサー
<p>機能性流体・添加剤</p> <ul style="list-style-type: none"> ・潤滑剤 ・イオンコンプレッサー ・燃料添加剤 ・制御防止剤 ・熱流体 	<p>無機合成・薄膜</p> <ul style="list-style-type: none"> ・真空蒸着 ・希土ナノ粒子合成 	<p>バイオリファイナリー</p> <ul style="list-style-type: none"> ・セルロース可溶化
	<p>バイオテクノロジー</p> <ul style="list-style-type: none"> ・酵素反応 ・ドラッグデリバリー ・タンパク質リフォールディング 	

3 第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇話会 | 05.12.2018



イオン液体液相カラムとは？

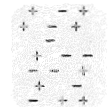
MERCK

1. イオン液体を液相に用いたカラム

- ・ジカチオンやポリカチオンを液相に用いる
- ・カチオン、アニオン、結合相の選択で様々な液相が設計可
- ・末端に活性水酸基(-OH)が無いいため優れた耐久性を有する

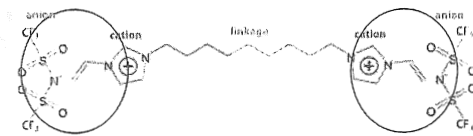


食塩 固体

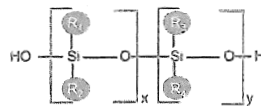


イオン液体 (<150°Cで液体)

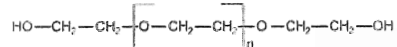
SLB-IL100カラムの液相
(極性順位100番, 耐熱230°C)



シリコン系
PEG系



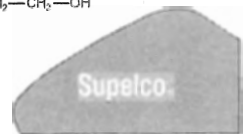
R = メチル, フェニル, フルオロプロピル, シアノプロピル基
非極性 極性



2. 極性シリコン系 or PEGカラム

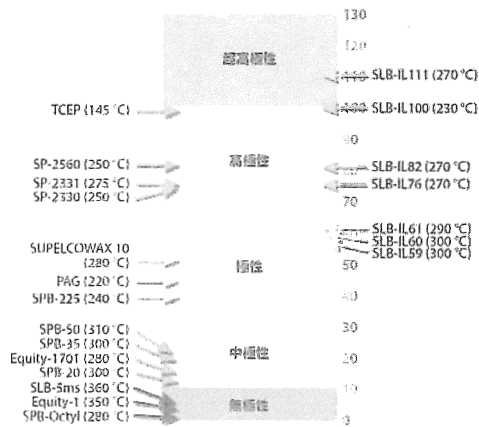
- ・既存カラムの官能基は限られています
- ・末端にシアノプロピルの水酸基を有することから、温度、水、酸素などに敏感で劣化しやすい液相

4 第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇話会 | 05.12.2018



極性スケールとカラムの特長

従来のシアノプロピル/シロキサン、ポリエチレングリコール液相と比較して



- 従来のWaxカラムより極性が高い、超高極性カラム
- 超高極性のカラムは、従来分離が不可能だった異性体を分離することが可能に。
- より高温域での使用が可能。
- 水分や酸素によるダメージを受けにくく耐久性が高い。
- シロキサン系カラムに見られるブリードがほとんど無い。



5

液相の耐久性

耐久性比較

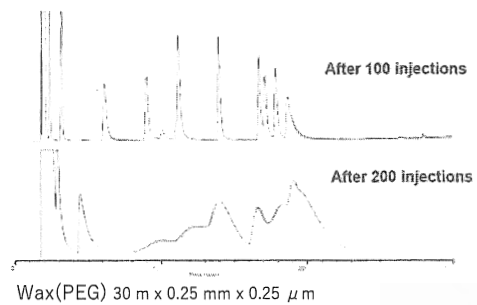
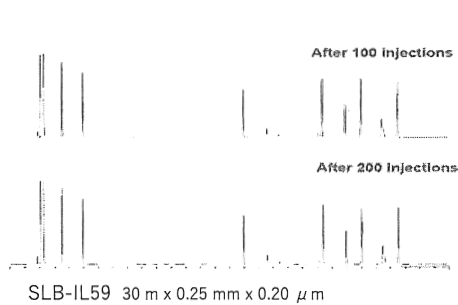
キャリアーガスに空気を繰り返し繰り返し測定をした場合の比較です。

メソメソアール... (faint text)

Oven: 50 °C(2 min.) to 200 °C(15 min.) at 4 °C/min.

Inj.: 250 °C, 1 μL, Split: 50:1, Det.: 250 °C

Air: constant air pressure 16 psi



6

溶出比較

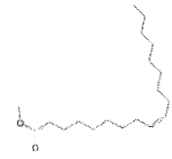
MERCK

既存カラムとのC18:1位置異性体溶出比較

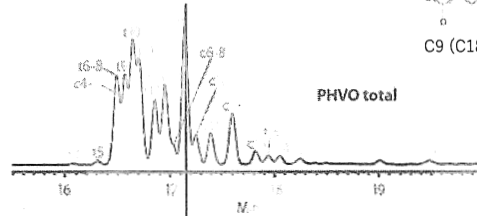
column: SP-2560,
100 m x 0.25 mm I.D., 0.20 μm (24056)
oven: 180 ° C isothermal
inj.: 250 ° C
det.: FID, 250 ° C
carrier gas: hydrogen, 1 mL/min.
injection: 1 μL, 100:1
split liner: 4 mm I.D., split liner with cup (2051001)

column: SLB-IL111,
100 m x 0.25 mm I.D., 0.20 μm (29647-U)
oven: 168 ° C isothermal
inj.: 250 ° C det.:
FID, 250 ° C
carrier gas: hydrogen, 1 mL/min.
injection: 1 μL, 100:1
split liner: 4 mm I.D., split liner with cup (2051001)

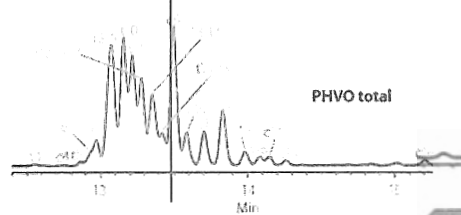
SP-2560 (P.N.81)
100%ビスシアノプロピル



C9 (C18:1 オレイン酸メチル)



SLB-IL111 (P.N.111)



7

第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇談会 | 05.12.2018

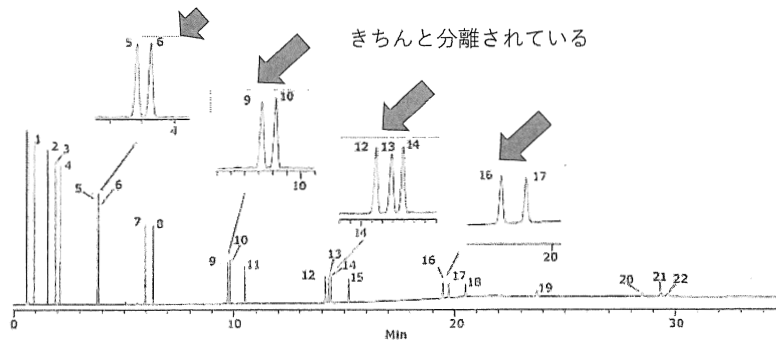
Supelco.

多環芳香族分析への応用

MERCK

column:	SLB-ILPAH, 20 m x 0.18 mm I.D., 0.05 μm (29799-U)
oven:	150 °C, 15 °C/min to 225 °C, 5 °C/min to 300 °C (15 min)
inj. temp.:	300 °C
detector:	FID, 310 °C
carrier gas:	hydrogen, 1.3 mL/min, constant flow
injection:	1 μL, 300:1 split
liner:	2.3 mm I.D., split/splitless type, wool packed straight FocusLiner™ design
sample:	22 analytes, each at 100 μg/mL in methylene chloride

1. Naphthalene
2. Acenaphthene
3. Acenaphthalene
4. Fluorene
5. Phenanthrene
6. Anthracene
7. Fluoranthene
8. Pyrene
9. Benzo[a]anthracene
10. Chrysene
11. 5-Methylchrysene
12. Benzo[b]fluoranthene
13. Benzo[k]fluoranthene
14. Benzo[i]fluoranthene
15. Benzo[a]pyrene
16. Dibenzo[a,h]anthracene
17. Indeno[1,2,3-cd]pyrene
18. Benzo[ghi]perylene
19. Dibenzo[a,i]pyrene
20. Dibenzo[a,e]pyrene
21. Dibenzo[a,j]pyrene
22. Dibenzo[a,h]pyrene



8

第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇談会 | 05.12.2018

Supelco.

新しいイオン液体カラム IL-iシリーズ

MERCK

新製品のiシリーズ：さらに不活性度を高めたイオン液体カラム

SLB-IL59	使用温度範囲； 室温～300°C ポリエチレングリコール (PEG, WAX, Max260°C) と同等な極性や選択性を持つように開発
SLB-IL60(i)	使用温度範囲； 室温～300°C SLB-IL59でやや改善が必要であったアルコール、アミン、多感芳香族のピーク形状が良好に
SLB-IL61	使用温度範囲； 40～290°C
SLB-IL76(i)	使用温度範囲； 室温～270°C SP-2331 (80%ビスシアノプロピル/20%シアノプロピルフェニル) と同等な極性
SLB-IL82	使用温度範囲； 50～270°C SP-2560 (100%ビスシアノプロピル, Max 250°C) と同等な極性
SLB-IL100	使用温度範囲； 室温～230°C 2008年に発売した最初のイオン液体液相カラム 本カラムの極性を100として他のカラムの極性番号を決定
SLB-IL111(i)	使用温度範囲； 50～270°C 現在発売の中で最も極性の高いイオン液体液相カラム



9 第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇談会 | 05.12.2018

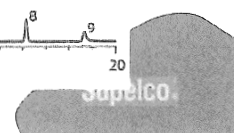
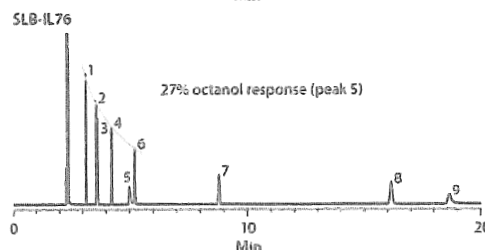
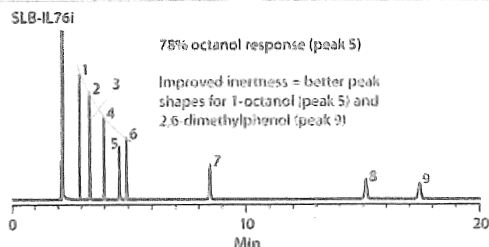
IL-iシリーズ：ピーク形状改善

MERCK

極性化合物のピーク形状をさらに改善！

Polar Test Mix
 column: SLB-IL76i, 30 m × 0.25 mm I.D., 0.20 μm
 column: SLB-IL76, 30 m × 0.25 mm I.D., 0.20 μm
 oven: 130 °C
 inj. temp.: 250 °C
 detector: FID, 250 °C
 carrier gas: helium, 1.2 mL/min (28 cm/sec)
 injection: 1 μL, 100:1 split
 liner: 4 mm I.D., split type, cup design
 sample: polar column test mix (47302), 9 analytes
 each at 500 μg/mL in methylene chloride

1. *n*-Pentadecane
2. *n*-Hexadecane
3. 2-Octanone
4. *n*-Heptadecane
5. 1-Octanol
6. *n*-Octadecane
7. *n*-Eicosane
8. 2,6-Dimethylaniline
9. 2,6-Dimethylphenol

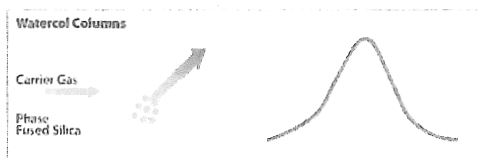


10 第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇談会 | 05.12.2018

watercol : 水が定量出来るGCカラム

MERCK

- ✓ 0.01% water to 100%の水試料に対応します
- ✓ 水の定量が可能です
- ✓ 水に対する耐久性が高く、継時変化を最少とします



従来のイオン液体カラム

- 従来の液相は、極性が強いいため水を保持しますが、イオンタラクションが強くキャリアガスへの再放散がされ難く、シャープなピークが得られませんでした。

Watercol シリーズ

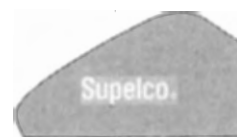
- 新たな液相は、極性を保ったまま、シャープな水のピークが得られるように固定相の革新的な調整がされています。
- イオン液体種が異なる2製品がございます。

Watercol 1900 オーダーメイドでご案内

Watercol 1910 発売中

11

第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別セミナー | 05.12.2018



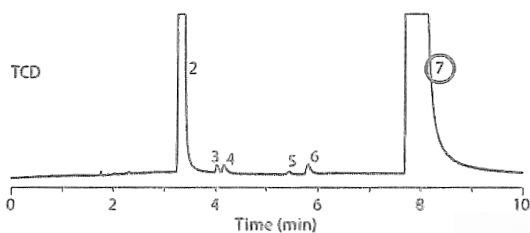
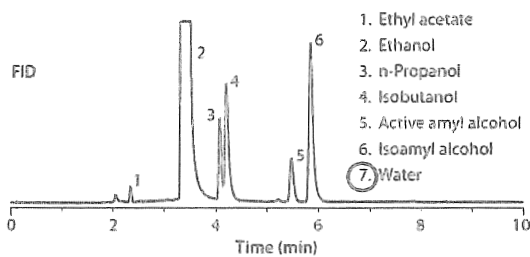
watercol : アプリケーション

MERCK

テキーラ中のアルコール (Food and Beverage Application)

Column: Watercol 1910, 30 m × 0.25 mm I.D.,
0.20 μm (Cat# 29711-U);

oven: 50 °C (1 min), 5 °C/min to 180 °C (3 min)
inj. temp.: 250 °C
detector: FID, 200 °C
detector: TCD, 200 °C
carrier gas: helium, 25 cm/sec (measured in each
column at an oven
temperature of 125 °C)
injection: 1 μL, 100:1 split
liner: 4 mm I.D., split/splitless type, wool packed single
taper
FocusLiner™ design
sample: neat tequila



12

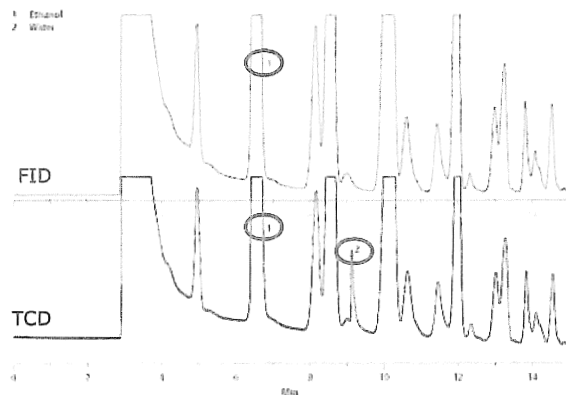
第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別セミナー | 05.12.2018



watercol : アプリケーション

MERCK

ガソリン中の水0.25%の測定



Column: Watercol 1460, 30 m × 0.25 mm I.D., 0.20 μm;

oven: 45 ° C (4 min), 5 ° C/min to 75 ° C, 10 ° C/min to 220 ° C (10 min)
 inj. temp.: 250 ° C
 detector: FID, 250 ° C
 detector: TCD, 200 ° C
 carrier gas: helium, 20 cm/sec
 injection: 1 μL, 50:1 split
 liner: 4 mm I.D., split/splitless type, wool packed single taper FocusLiner™ design
 sample: 1.5 mL unleaded gasoline, spiked with water at 0.25 % (v/v)
 1. Ethanol
 2. Water

13

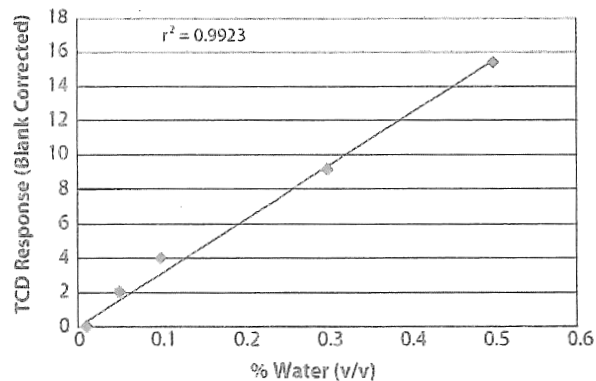
第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇話会 | 05.12.2018



watercol : アプリケーション

MERCK

Watercol 1910を用いた水0.01–0.5%の検量線



Column: Watercol 1910, 30 m × 0.25 mm I.D., 0.20 μm (29711-U)

oven: 80 ° C (10 min)
 inj. temp.: 250 ° C
 detector: TCD, 200 ° C
 carrier gas: helium, 26 cm/sec
 injection: 0.5 μL, 100:1 split
 liner: 4 mm I.D., split type, cup design
 sample: 5 standards, water at 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, and 0.5% (v/v), each in ethanol

14

第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇話会 | 05.12.2018





カタログ番号 : CAM034

15 第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇談会 | 05.12.2018



<http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/applications-search.html>



カスタムGCカラム(オーダーメイド)

カラム材質

ガラス
 ステンレス (SUS 304)
 ニッケル合金
 テフロン 管
 その他 ()

カラム形状 ご使用の GC メーカー名、機種名等についてご指定の形状を下記にご記入下さい。
 GC メーカー名: _____
 機種名: _____
 輸出側の種類: _____
 カラム型: オンカラム型 非オンカラム型

その他 _____

カラムサイズ (単位を明記して下さい)
 カラム外径: _____
 カラム内径: _____
 カラム長さ: _____

カラム末端部分 金属カラム接続は、スウェージロック継ぎ手 (通常は真鍮製) 形式になります。
 1/8" 外径ステンレス製カラムでは、末端にステンレス製のスクリーンを取り付けることも可能です。ご要望がございましたら下記にご記入下さい。

充填剤 各種吸着型充填剤、標準充填剤の他、ご指定の液相、担体を組み合わせたカスタム充填剤の取扱いも可能です。下記にご記入下さい。

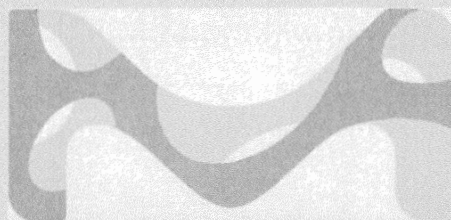
液相1 (名称, %) : _____ %
 液相2 (名称, %) : _____ %
 担体 (メッシュサイズ, 名称) : _____

コンディショニング・カラム試験 コンディショニング希望 希望しない



16 第362回 ガスクロマトグラフィー研究会特別懇談会 | 05.12.2018

Thank you for your time and attention



主題講演 4

「食品・農作物の加熱評価としての香気成分分析とメタボローム解析」

(慶應義塾大学) 若山 正隆

主題講演 5

「香りによる柑橘品種の分類」

(山口大学) 赤壁 善彦

食品・農作物の加熱評価としての香気成分分析とメタボローム解析

慶應義塾大学 先端生命科学研究所

若山 正隆 (わかやま まさたか)

はじめに

食品・農作物の評価としてメタボローム解析、香気成分分析は近年、様々な側面で使用されてきている。両者の分析はしばしば独立して行われることも多い。しかしながら実際には生物由来の試料が代謝（生物現象）、酵素反応、加熱などに伴う化学的な反応、変化を伴って各種の代謝成分(メタボライト)、もしくは香気成分を発生している。このため両者の分析はより密接に行われるべきである。食品・農作物において加熱過程は、安定性、保存性の向上のため、あるいは加工して食用時の有用性の向上など非常に重要な過程である。本発表では食品・農作物における加熱評価をメタボローム解析と香気成分分析をあわせて解析し、その両者の関連性の解析を試みた。

食品における加熱過程

食品における加熱過程は温度帯別に様々な現象が報告されている。例えば肉類に含まれるアクチン、ミオシンといったタンパク質の編成は 50℃から 65℃程度の比較的低温帯で発生する。アミノ酸と糖類が反応する褐変反応であるアミノ-カルボニル反応(メイラード反応)では 100℃から 180℃前後で発生し、しばしば香ばしい香気を伴う。その他、糖が変質するカラメル化反応はさらに高い温度帯で発生されるとされる。これらの個々の反応は従来から研究がおこなわれている一方で、実際の食品で例えば温度帯別にどのような反応が実際に起こっているかを推察するアプローチは十分とはいえないのが現状である。

メタボローム解析の活用

近年の各種分析機器の発達及び情報機器の発達に伴い、生物体を起源とする構成成分の変化を明らかにする手法としてメタボローム解析が用いられるようになってきた。メタボローム解析において分析ターゲットとして用いられるのは生物由来の組織、器官で生きている生物体そのものを用いることが多い。しかしながら実際には成分分析の一つであり、各種食品の特徴づけにも用いられてきた。もちろん食品、農作物における加熱過程の物質的な変化についても利用可能といえる。

メタボローム解析の手法として核磁気共鳴法(NMR)、質量分析計(MS)などの手法が存在する。このうち MS を用いる方法は様々なクロマトグラフィー等を用いた分離手法と組み合わせることで高精度に高感度で物質を分離・定量を行うことが可能である。具体的には GC-MS, LC-MS, CE-MS があげられる。GC-MS においては誘導体化処理を用いることで親水性、親油性を含む様々な物質を分析することが可能となる一方、誘導体化を行うための

試料の乾燥処理（凍結乾燥など）、並びに発熱過程を伴うことが大きい誘導体化処理が必要となる。一方、LC-MS、CE-MS での分析ではサンプルを何らかの形で溶媒に溶解し、分析ターゲットとなる成分を抽出、濃縮して分析する（図 1）。いずれの方法でも試料そのものの形態で分析することは難しく、分析に伴う前処理とそれに伴う物質変化が推察されうる。加熱評価を考慮した場合、分析における前処理において、できる限り試料に対する加熱影響が少ないことが望ましい。近年、GC-MS の誘導体化処理においても加熱過程が少ない手法も発表されているが LC-MS、CE-MS での分析においてはサンプルに加熱処理をかけることなしに抽出処理、測定を実施できる。このため溶媒による試料への影響を考慮できれば比較的、加熱過程をメタボローム解析で評価することが可能である。

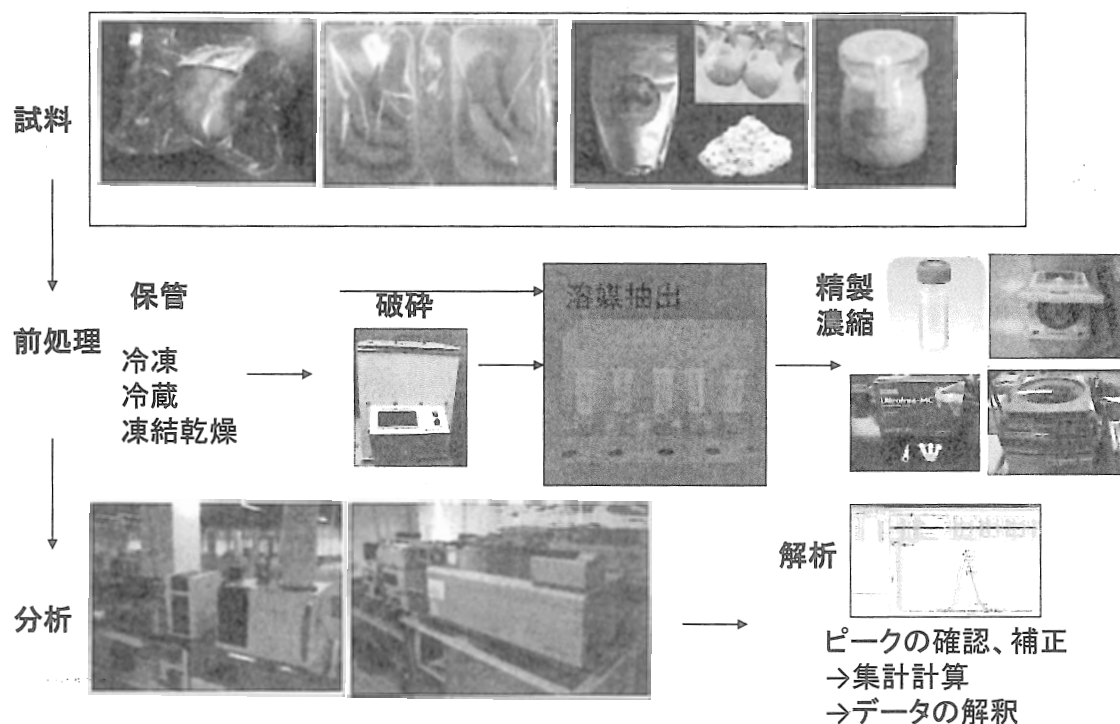


図 1. CE-MS, LC-MS を用いた場合でのメタボロームにおける抽出。

加熱評価を考慮した香気成分分析の手法

香気成分分析においては香気がガス体であることもあり GC-MS が多く用いられている。香気をどのようにとらえるかについてはヘッドスペースガス(HS)法、固相マイクロ抽出 (SPME) 法、加熱脱着材(ゲステル社 Twister, GL サイエンス Monotrap)を用いる方法等がある。HS 法に比べて後述の 2 種の手法では濃縮を兼ねて香気成分を吸着材 (ポリジメチルシロキサン等) にトラップし、これを再度加熱して離脱させ、GC-MS に導入することで分析が可能となっている。

香気成分とメタボライトをどのようにとらえるのか

それでは実際にどのように加熱過程におけるメタボライトと香気成分を捉えればよいのだろうか。前述の通り食品の加熱に伴う反応は温度帯別に起こっている。このため温度帯別に食品の加熱処理を行い、香気成分を吸着させ GC-MS 分析、材料を回収して抽出、CE-MS, LC-MS でのメタボローム分析を行った。メタボローム解析については加熱過程以外での熱由来のアーキファクトをできる限り抑えられる溶媒抽出による CE-MS, LC-MS での分析を用いた。

エダマメでの香気成分とメタボローム解析

日本にはダイズの未熟の豆を加熱したエダマメ形態での食べ方が存在する。このエダマメには莢の毛が白色あるいは茶色の豆が存在し、山形県庄内地方をはじめ茶色の毛をもつ茶豆品種は一般に香気が良いとされている。今回、エダマメの加熱においてどのように香気成分が変化するかを SPME 法で香気を一定時間吸着後、ワックス系カラムで GC-MS 分析を行った (図 2)。本実験においては個別のエダマメの粒を生の状態に取り出し一定温度一定時間の加熱処理を行った。図 2 のクロマトグラムに示すように香気成分は 30°C~50°C に一定時間置いた場合では構成成分の変化は小さいが、60°C 以降になるとそれ以下の温度帯では検出できなかった構成成分のピークが保持時間のやや遅い時間帯に検出されることが示された。さらに 100°C 以降になると、さらに保持時間が遅いピークが検出されることが示された。

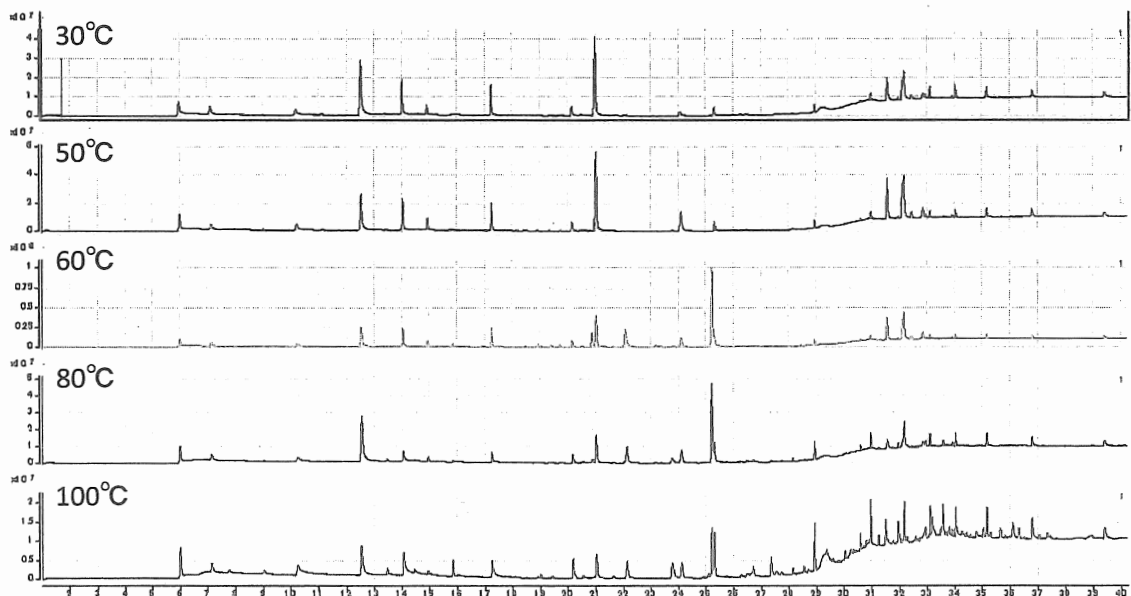


図 2 エダマメの加熱温度帯別の香気成分分析

メタボローム解析サンプルについては材料を加熱処理後、一旦液体窒素による凍結保管後、メタノール系溶媒を添加した状態で破砕機による破砕を実施、抽出処理を行った。メタ

ノールにサンプルが溶けた懸濁液を一部分注後、メタノール — クロロホルム — 水系で分配処理を行い、親水性成分について限外濾過を実施し、精製した。さらに遠心濃縮機で濃縮を行った。いずれの過程も室温以上の温度にサンプルがさらされることが無いように留意し、加熱過程に影響ができるかぎりないよう配慮した。最終的に乾固物を水で溶解後、CE-MS、LC-MSによるメタボロームを実施した。結果の詳細、並びに香気成分、メタボローム解析との関連性等については講演会において報告する予定である。

まとめ

食品、農作物の香気並びに構成成分は、いずれも品質を担保するうえで重要なファクターである。香気成分分析とそれ以外のメタボローム解析を融合させることで、食品、農作物の品質の高度化、特徴づけ、安定性の担保等に有効に利用できるものと考えられる。

香りによる柑橘品種の分類

山口大学大学院創成科学研究科・赤壁 善彦(あかかべ よしひこ)

<緒言> 全国各地で、より消費者のニーズに応える柑橘の品種を求め、改良が進められてきた。柑橘の香気は品種ごとに異なり、その成分分析はすでに多くの品種において行われている。一般に、柑橘の果皮の香気成分中は limonene が主成分であるが、その柑橘の全体の香気特徴は、limonene 以外の成分組成の違いにより決まる。当研究室では、柑橘の香気特徴をその親品種との相関を精査するとともに、系統分類を検討している。例えば、山口県のオリジナル品種として、「せとみ」は、吉浦ポンカン(*Citrus reticulata* Blanco)♂と清見(*Citrus unshiu* Mrcov. × *Citrus sinensis* Osbeck)♀の交雑種である(図 1)。既に各地で栽培されている「南津海(なつみ)」は、吉浦ポンカン(*Citrus reticulata* Blanco)♂とカラマンダリン(*Citrus reticulata* Blanco)♀から生まれた。まだ品種登録に至っていない「大島1号」は、吉浦ポンカン(*Citrus reticulata* Blanco)♂と宮内イヨカン(*Citrus iyo* Hort. ex Tanaka)♀の交雑種である。一方、山口県にはオリジナル香酸柑橘として「長門ユズキチ」という品種があり、その他香酸種との成分比較も興味深い。よって、本研究では、同圃場内で栽培された各柑橘の果皮から精油を調製して GC-MS 分析し、品種間の成分組成の比較を行うことにより系統分類のための基礎データを取得するとともに、におい識別装置による柑橘の分類も試みた。

<方法> 柑橘サンプル(図 1)は、山口県周防大島町の柑きつ振興センターより提供を受け、収穫後に果皮と果肉の部分に分け、精油調製まで冷凍保存(-20℃)した。精油は、冷凍の果皮(100 g)を蒸留水とともに摩砕し、直ちに連続蒸留抽出装置でペンタン-ジクロロメタンを溶媒として2時間抽出した。抽出液は硫酸ナトリウムで一晩乾燥後、溶媒を減圧留去して精油量を求め、一定の割合で希釈した後に香気成分を GC-MS (Shimadzu QP5050)分析した。使用したカラムは DB-WAX (0.25 mm × 60 m)であり、各成分はアルカンを用いて RI を求めた。化合物の同定は、標品の RI およびマススペクトルとの比較か、文献の RI 値とマススペクトルから行った。必要に応じて、内部標準化合物を加えて精油を調製し、各香気成分の定量を行なった。また、柑橘の全体の香気の質を比較するために、精油をサンプルバックに入れ、におい識別装置(Shimadzu FF2A)により分析して、統計解析により主成分分析した。

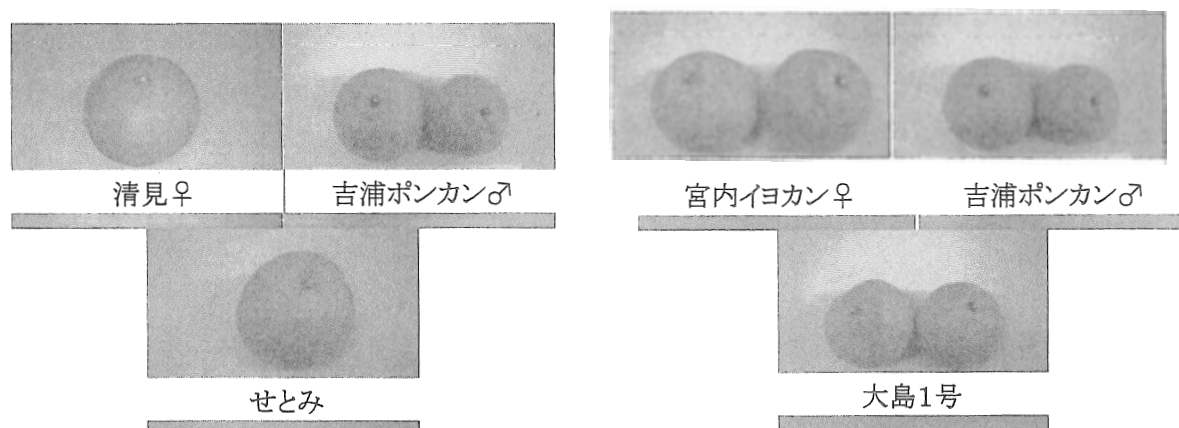


図 1 「せとみ」、「大島1号」とその親品種

表 柑橘精油の香気成分の官能基別(「せとみ」とその親品種)

官能基別	せとみ		吉浦ポンカン		清見	
	No.	mg/100 g peel (%)	No.	mg/100 g peel (%)	No.	mg/100 g peel (%)
モノテルペン炭化水素	13	841.47 (97.75)	12	1312.26 (97.57)	7	726.47 (97.79)
セスキテルペン炭化水素	5	4.13 (0.48)	-	-	5	4.78 (0.64)
モノテルペンオキシド	4	4.75 (0.55)	8	22.95 (1.71)	8	5.58 (0.75)
セスキテルペンオキシド	2	3.38 (0.39)	1	0.43 (0.03)	2	0.48 (0.06)
脂肪族アルデヒド	4	7.13 (0.83)	4	9.3 (0.69)	5	4.52 (0.61)
エステル	-	-	-	-	1	0.28 (0.04)
未同定	-	-	-	-	2	0.8 (0.11)

<結果および考察> まず、親子間の香気成分を比較するため、「せとみ」、親品種の「吉浦ポンカン(♂)」および「清見(♀)」の果皮から精油を調製しGC-MS分析すると、「せとみ」の果皮精油より、28成分が同定され、モノテルペン炭化水素(13成分, 97.75%), セスキテルペン炭化水素(5成分, 0.48%), 脂肪族アルデヒド(3成分, 0.83%), モノテルペンオキシド(3成分, 0.55%), セスキテルペンオキシド(2成分, 0.39%)が、「吉浦ポンカン(♂)」は25成分中、モノテルペン炭化水素(12成分, 97.57%), 脂肪族アルデヒド(4成分, 0.69%), モノテルペンオキシド(8成分, 1.71%), セスキテルペンオキシド(1成分, 0.03%)、「清見(♀)」は30成分中、モノテルペン炭化水素(7成分, 97.79%), セスキテルペン炭化水素(5成分, 0.64%), 脂肪族アルデヒド(5成分, 0.61%), モノテルペンオキシド(8成分, 0.75%), セスキテルペンオキシド(2成分, 0.06%)が含まれていた(表)。以上の各精油組成を見比べると、「吉浦ポンカン」は、モノテルペン炭化水素の含有量が他の品種に比べて高く、モノテルペンオキシドやアルデヒド量も比較的高いが、セスキテルペン炭化水素の成分がないのが特徴であった。「清見」は、モノテルペン炭化水素の成分数ならびに含有量が他の品種に比べて低く、アルデヒド量も低いが、セスキテルペンの成分量が比較的高い特徴であった。一方、「せとみ」は、親品種の各特徴を兼ね備え、「吉浦ポンカン」のようにモノテルペン類の成分数が多く、アルデヒド量も比較的高く、「清見」のようにセスキテルペンの成分数が多かった。さらに、「せとみ」には親品種には認められない、あるいは比較してその含有量の高い成分も含まれていることが明らかとなった。そこで、におい識別装置により香気成分の分析を行って、主成分分析したところ、「せとみ」の果皮精油の香気は、その親品種と比較して、異なるニオイの質を有していることがわかった(図2)。

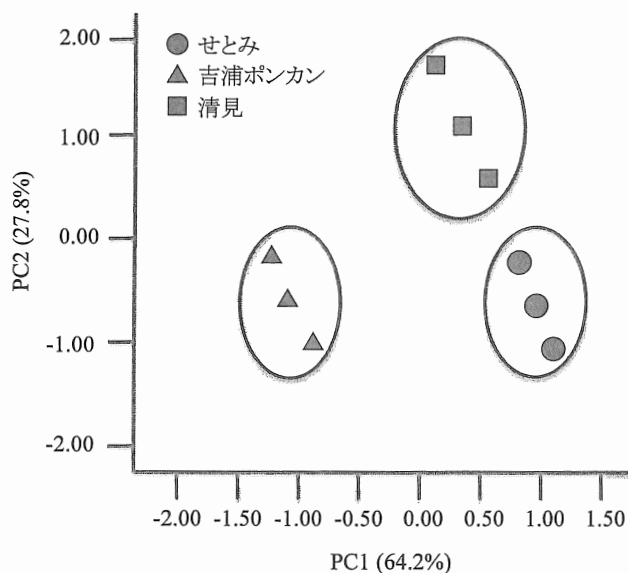


図2 柑橘精油香気の主成分分析(「せとみ」とその親品種)

次に、「南津海」、親品種の「吉浦ポンカン(♂)」および「カラマンダリン(♀)」の果皮から精油を調製し、これらの精油を用いて GC-MS 分析を行った。「南津海」の果皮精油より、21 成分が同定され、モノテルペン炭化水素(12 成分、98.13%)、セスキテルペン炭化水素(1 成分、0.29%)、脂肪族アルデヒド(4 成分、0.91%)、モノテルペンアルコール類 (3 成分、0.49%)、モノテルペンアルデヒド(1 成分、0.10%)が見られた。「吉浦ポンカン(♂)」は改めて精油を調製して 18 成分を比較し、モノテルペン炭化水素(12 成分、98.00%)、脂肪族アルデヒド(2 成分、0.53%)、モノテルペンアルコール(3 成分、1.40%)、モノテルペンアルデヒド(1 成分、0.07%)、「カラマンダリン(♀)」は 17 成分中、モノテルペン炭化水素(11 成分、98.43%)、セスキテルペン炭化水素(1 成分、0.31%)、脂肪族アルデヒド(2 成分、0.75%)、モノテルペンアルコール(2 成分、0.35%)、モノテルペンアルデヒド(1 成分、0.08%)が含まれていた。各精油組成を比較すると、「南津海」の主要香気成分である limonene の含有率が若干低いものの、親品種と同程度の含有率を占めていることがわかった。また、「南津海」と「カラマンダリン(♀)」に見られたセスキテルペン炭化水素は「吉浦ポンカン(♂)」には見出されず、「南津海」のセスキテルペン炭化水素は、「カラマンダリン(♀)」から特徴的に受け継いだものと考えられた。脂肪族アルデヒドは両親品種に比べて「南津海」において多い化合物数を示し、モノテルペンアルデヒドも親品種よりも高い含有率を示した。モノテルペンアルコールは「吉浦ポンカン(♂)」において最も高い含有率を示し、「南津海」は「カラマンダリン(♀)」と同程度であった。よって、「南津海」は両親品種と比較すると「カラマンダリン(♀)」の成分に似ているものの、その割合は異なることから、「南津海」独自のニオイの質になっていると考えた。

続いて、品種未登録の大島 1 号についても同様に精油を調製して GC-MS の分析を行ったところ、大島 1 号からは 20 成分が同定され、宮内イヨカンからは 17 成分を同定し、改めて調製した吉浦ポンカンからは 14 成分を比較した。大島 1 号の 20 成分のうち、モノテルペン炭化水素は 10 成分(93.93 %)、セスキテルペン炭化水素は 2 成分(0.21%)、アルコールは 4 成分(4.53 %)、脂肪族アルデヒドは 3 成分(0.79 %)、エーテルは 1 成分(0.09 %)であった。大島 1 号の limonene 比は 3 つの品種の中で最も少ない含量であった。同様に、宮内イヨカンの 17 成分のうちモノテルペン炭化水素は 9 成分(96.98 %)、セスキテルペン炭化水素は 3 成分(0.56 %)、アルコールは 3 成分(1.9 %)、脂肪族アルデヒドは 1 成分(0.13 %)、エステルは 1 成分(0.11 %)が同定された。また吉浦ポンカンの 14 成分のうちモノテ

ルペン炭化水素は 10 成分(98.29 %)、アルコールは 2 成分(0.96 %)、アルデヒドは 2 成分(0.53 %)であった。成分組成の比較の結果、大島 1 号の甘い香りはアルデヒド類や linalool (3.82 %)の存在比の多さであると考えられ、特にアルデヒドは、吉浦ボンカンの比に類似していた。

一方、山口県のオリジナル香酸柑橘の長門ユズキチおよび、ユズ、カボス、スダチのそれぞれ精油を調製して GC-MS 分析した。長門ユズキチの精油より 35 の香気成分が同定され、12 種のモノテルペン炭化水素(90.50 %)、2 種のモノテルペン酸化物 (0.23 %)、8 種のセスキテルペン炭化水素(3.55 %)、4 種の脂肪族アルデヒド(1.75 %)、5 種のアルコール(3.25 %)、2 種のエステル(0.05 %)を 含んでいた。また、ユズの精油からは 15 化合物、カボスの精油からは 18 化合物、そしてスダチの精油からは 28 化合物が同定された。次に、長門ユズキチの精油組成をユズ、カボス、スダチの精油組成と比較すると、最もスダチに似ており、モノテルペン炭化水素、アルコール、およびセスキテルペン炭化水素などの含有率が類似していた。また、におい識別装置による長門ユズキチの精油の香りは、ユズ、カボス、スダチの精油と比較するとスダチの質に似ていた。

以上の結果より、柑橘果皮から得られた精油の香気成分は、両親品種の特徴的成分をそれぞれ引き継いでいることが明らかとなり、その結果、子の品種は独自の成分組成を新たに構成していることが判明した。また、精油のニオイの質はそれぞれ異なり、におい識別装置を用いることで、親子品種間でのニオイの違いも明確にできた(図 3)。つまり、GC-MS 分析による成分組成の同定とにおい識別装置の全体のニオイの質の評価の手法の組み合わせは、各柑橘品種間でのニオイの違い、あるいは親品種間との比較に有効であることが証明され、ニオイ成分から柑橘品種系統の分類が可能であることが示唆された。よって、新規の柑橘フレーバー、フレグランスとして、食品や飲料、化粧品等への商品開発へも有効な手段と思われる。

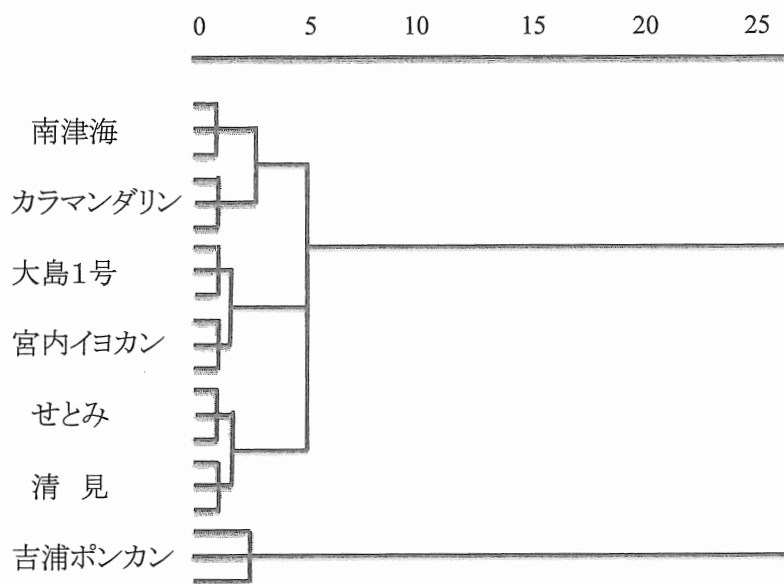


図 3 柑橘精油香気 dendrogram

技術講演 3

7. 「GC/EI 及び GC/ソフトイオン化法を用いた統合解析手法の開発と応用例」

(日本電子株式会社) 生方 正章

8. 「食品に関わる“におい分析”事例のご紹介」

(株式会社島津製作所) 牧岡 慎吾

JEOL
SOLUTIONS

第362回 カスクロマトグラフィー研究会特別講演会 技術講演
**GC/EI及びGC/ソフトイオン化法を用いた
 統合解析手法の開発と応用例**

2018.12.05
日本電子株式会社
 MS-BU MS事業企画 生方 正章

トピックス

- GC-MSにおける定性分析
- 自動解析ソフトウェア msFineAnalysis
 - ✓ EI法とソフトイオン化法の2つのデータを組み合わせた定性解析ソフトウェア
 - ✓ 解析のフロー、ソフトウェアの操作と内容
- msFineAnalysisによる定性解析事例
 - ✓ コーヒー香気成分のHS-GC-TOFMS測定

Solutions for Innovation JEOL

GC-MS定性分析 -NISTライブラリーDB検索-

- GC-MSを用いた定性分析の定番『NISTライブラリーDB検索』
 EI法はスペクトルの再現性が高く、メーカー、装置問わず、ほぼ同じスペクトルパターンが得られるため。
- NIST: National Institute of Standards and Technology (アメリカ国立標準技術研究所) 監修のEIMSスペクトルのデータベース
- 現在20万程度の化合物のEIMSスペクトルが収録されている。
- 化合物番号 (CAS登録番号) が付与された物質の数は1億種を超えており、NISTライブラリーDB登録化合物数だけではまだまだ不十分
- マッチファクタースコアだけの判断は危険
 900 or greater is an excellent match; 800-900, a good match; 700-800, a fair match. Less than 600 is a very poor match

NISTライブラリー検索だけでは、
観測成分の同定は難しい。

↓

- EI法、ソフトイオン化法、精密質量解析を組み合わせた統合解析を開発
- ライブラリーDB未登録の成分も解析可能になりました

Solutions for Innovation JEOL

多彩なイオン化法の必要性

・ハードイオン化法 (EI法) :

- 多くのフラグメントイオンが生成
- 構造情報が得られる
- ライブラリーサーチにより化合物同定が可能
- 分子イオンが得られにくい
- ライブラリーに未登録の化合物は同定困難

・ソフトイオン化法 (CI法、FI法、PI法) :

- 分子イオンが検出可能
- 分子重情報から分子の組成を推定可能
- ライブラリーに登録されていない化合物でも同定可能。

EI法とPI法、FI法でのTerpinenのマススペクトル

EI法からの構造情報とソフトイオン化法からの分子量情報を得ることで、より確かな定性解析結果を得ることが可能となる

Solutions for Innovation JEOL

EI法/ソフトイオン化法データを組み合わせた自動解析ソフトウェア
msFineAnalysis

msFineAnalysisはGC-MSにおける定性解析を強力に支援する新しいコンセプトのソフトウェアです。

Solutions for Innovation JEOL

EI法/ソフトイオン化法データを組み合わせた自動解析ソフトウェア
msFineAnalysis

EIデータとソフトイオン化法 (CI, FI, PI) データを組み合わせて、①~⑤の5つの定性解析を実行。

- ① ライブラリーサーチ
- ② 分子イオンの探索
- ③ 分子イオンの組成推定
- ④ 同位体パターン解析
- ⑤ EIフラグメントイオン解析

これらの解析結果を総合的に判断して組成候補の絞り込みを自動で行い、定性解析結果を切出す。

解析結果一覧表

解析結果一覧表

- 各行に検出された化合物毎の解析結果を表示
- 解析結果の良否を色分けして表示

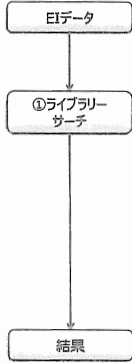
分子イオン/m/z情報 | 組成候補情報 | ライブラリー情報

緑：組成候補が1つに決まった。
 オレンジ：組成候補が複数ある。
 灰色：有意な候補が見つからなかった。

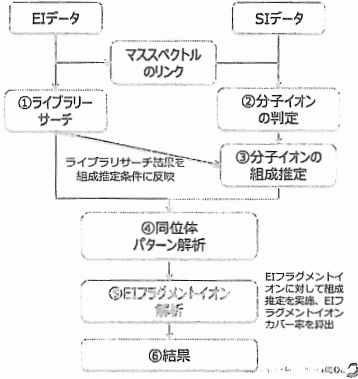
Solutions for Innovation JEOL

従来のGC-MS定性解析との解析フロー比較

従来のEI法みの定性解析 (GC-QMS)



EI法とソフトイオン化法を組合せた定性解析 (GC-TOFMS + msFineAnalysis)



msFineAnalysisの特長①

分子イオンの組成推定

ライブラリサーチ結果による組成推定条件の拡張機能

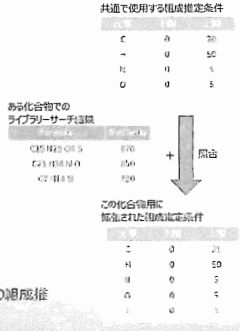
組成推定条件(元素の種類と数の範囲)

- 条件を広く設定すると候補が多数算出され絞りきれない
 - 条件を狭く設定し過ぎると正しい組成結果が得られない
- 事前に元素種と数を把握できないので条件設定が難しい。

msFineAnalysisでは、

- 分子イオンの組成推定の前に
- ライブラリサーチ結果から分子イオンの組成を得る
- 分子イオンの組成の元素種と数に対して、共通で使用する組成推定条件と照合
- 足りない分について組成推定条件を拡張

組成推定条件が化合物に拡張されることで、分子イオンの組成推定が無駄なく、正しい組成が得られるようになる。



msFineAnalysisの特長②

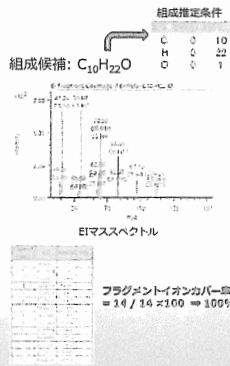
EIフラグメントイオンカバー率

フラグメントイオンの組成は分子イオンの組成の元素種と数を超えない範囲となる。組成候補を推定の条件としてEIフラグメントイオンの組成推定を実施すると、

- 組成候補が分子イオンの組成として正しい場合：全てのフラグメントイオンの組成推定結果が得られる
- 組成候補が分子イオンの組成として正しくない場合：フラグメントイオンの組成推定結果が得られない

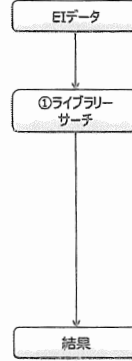
EIフラグメントイオンカバー率 = $\frac{\text{組成推定結果が得られたフラグメントイオンの本数}}{\text{全フラグメントイオン本数}}$

EI法とソフトイオン化法の精密質量データから得られる解析手段なので、ライブラリサーチに登録されていない化合物に対しても有効。

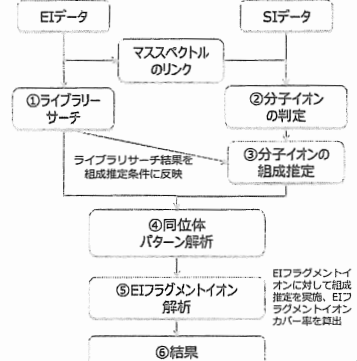


従来のGC-MS定性解析との解析フロー比較

従来のEI法みの定性解析 (GC-QMS)

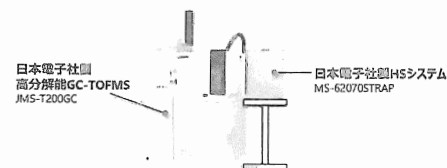


EI法とソフトイオン化法を組合せた定性解析 (GC-TOFMS + msFineAnalysis)



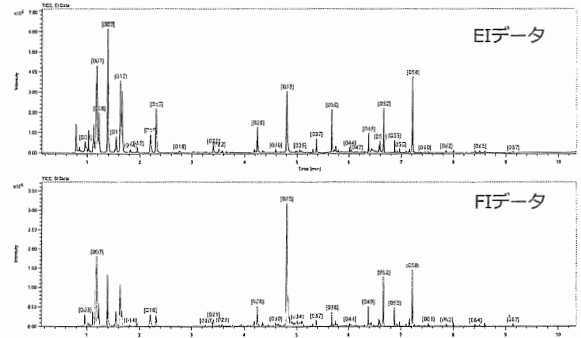
msFineAnalysisによる定性解析事例

✓コーヒー香気成分のHS-GC-TOFMS測定



コーヒー香気成分のHS-GC-TOFMS TICクロマトグラム

・EI法とソフトイオン化のFI法でそれぞれ測定を実施。67成分を検出



コーヒー香気成分のHS-GC-TOFMS 解析結果一覧表

統合解析を行うことで、
 > ライブラリー検索結果に対して、観測した分子イオン組成式、EIフラグメントイオン解析率から検索結果が正しいかどうかを確認することが可能
 > ライブラリー未登録成分も定性分析可能

RT 7.5min成分の詳細解析

従来のEI法みの解析では (ライブラリーサーチ結果)

#	Library Name	Similarity	Reverse Similarity	Formula	DB#
101	3-Ethoxy-3-methylcyclopentane	0.25	0.75	C ₈ H ₁₂ O	124
102	Spinyl diacetate	0.41	0.59	C ₈ H ₁₂ O	124
103	2-Cyclohexan-1-ene, 3,4-dimethyl-	0.62	0.38	C ₈ H ₁₂ O	124
104	2-Cyclohexan-1-ene, 4,4-dimethyl-	0.67	0.33	C ₈ H ₁₂ O	124
105	2-Cyclohexan-1-ene, 4,4-dimethyl-	0.71	0.29	C ₈ H ₁₂ O	124
106	Spinylacetate	0.73	0.27	C ₈ H ₁₂ O	124
107	Hexadecan-9-ylacetate	0.75	0.25	C ₁₆ H ₃₂ O	124
108	Dicyclohexylidene oxide	0.9	0.1	C ₈ H ₁₂ O	124
109	Cyclohexanone, 2-methylene-	0.98	0.02	C ₈ H ₁₂ O	124
110	Bicyclopentylidene	0.99	0.01	C ₈ H ₁₂ O	124

⇒類似度700以上の候補がない
ライブラリー未登録の未知成分の可能性大

msFineAnalysisを用いた統合解析では

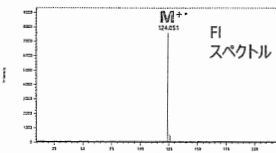
#	Formula	DB#	Observed	Calculated	Delta	Library Name	Similarity	Reverse Similarity	Formula	DB#
101	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	3-Ethoxy-3-methylcyclopentane	0.25	0.75	C ₈ H ₁₂ O	124
102	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	Spinyl diacetate	0.41	0.59	C ₈ H ₁₂ O	124
103	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	2-Cyclohexan-1-ene, 3,4-dimethyl-	0.62	0.38	C ₈ H ₁₂ O	124
104	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	2-Cyclohexan-1-ene, 4,4-dimethyl-	0.67	0.33	C ₈ H ₁₂ O	124
105	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	2-Cyclohexan-1-ene, 4,4-dimethyl-	0.71	0.29	C ₈ H ₁₂ O	124
106	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	Spinylacetate	0.73	0.27	C ₈ H ₁₂ O	124
107	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	Hexadecan-9-ylacetate	0.75	0.25	C ₁₆ H ₃₂ O	124
108	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	Dicyclohexylidene oxide	0.9	0.1	C ₈ H ₁₂ O	124
109	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	Cyclohexanone, 2-methylene-	0.98	0.02	C ₈ H ₁₂ O	124
110	C ₇ H ₈ O ₂	124	124.0514	124.0514	0.0000	Bicyclopentylidene	0.99	0.01	C ₈ H ₁₂ O	124

分子イオン解析:
C₇H₈O₂

分子イオンの解析結果

⇒ライブラリーサーチ結果では有意な候補がなかったが、msFineAnalysisを使うことでこの成分の分子式としてC₇H₈O₂という組成が有意な候補として得られた。

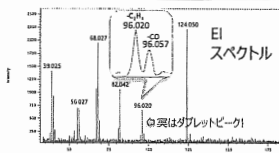
RT 7.5min成分の詳細解析



FI 精密質量+同位体パターン解析結果

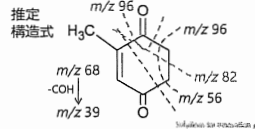
-0.5 mDa (C₇H₈O₂)
 青: 実測値
 赤: C₇H₈O₂理論値

精密質量と同位体パターン解析、EIフラグメントイオン組成解析率により、この成分の分子式は C₇H₈O₂と推定



EI 精密質量解析結果

RT	Formula	Abundance	Relative	DB#
39.0246	C ₃ H ₃	39.0229	1.7	2.5
56.0270	C ₃ H ₄ O	56.0257	1.3	2.0
68.0268	C ₄ H ₄ O	68.0257	1.1	3.0
82.0416	C ₅ H ₆ O	82.0413	0.3	3.0
96.0204	C ₅ H ₆ O ₂	96.0205	1.0	4.0
96.0571	C ₆ H ₈ O	96.0570	0.1	3.0



まとめ

- 統合解析手法による、確度の高いGC-MS定性分析を実現
 - ✓ EI法とソフトイオン化法の2つのイオン化データを駆使した5つの定性解析を実施
 1. ライブラリーサーチ
 2. 分子イオンの探索
 3. 分子イオンの組成推定
 4. 同位体パターン解析
 5. EIフラグメントイオン解析
 - ✓ 従来のライブラリーDB検索のみの解析から、より質の高いGC-MS定性解析結果を提供
 - ✓ ライブラリーDB未登録の成分であっても分子式推定、部分構造式 (フラグメントイオン組成式) から構造推定が可能
 - ✓ データ解析における作業時間短縮と解析結果の質向上に大きく貢献

最新の高分解能型GC-TOFMSと、新しいコンセプトの自動解析ソフトウェアを用いることで、より簡単に、迅速に精密質量を活用したGC-MS定性解析が可能。

食品に関わる“におい分析”事例のご紹介

(株)島津製作所 牧岡 慎吾

近年、生活環境はより快適さを求められており、「におい」はその指標の一つとして考えられ、関心は非常に高くなっています。

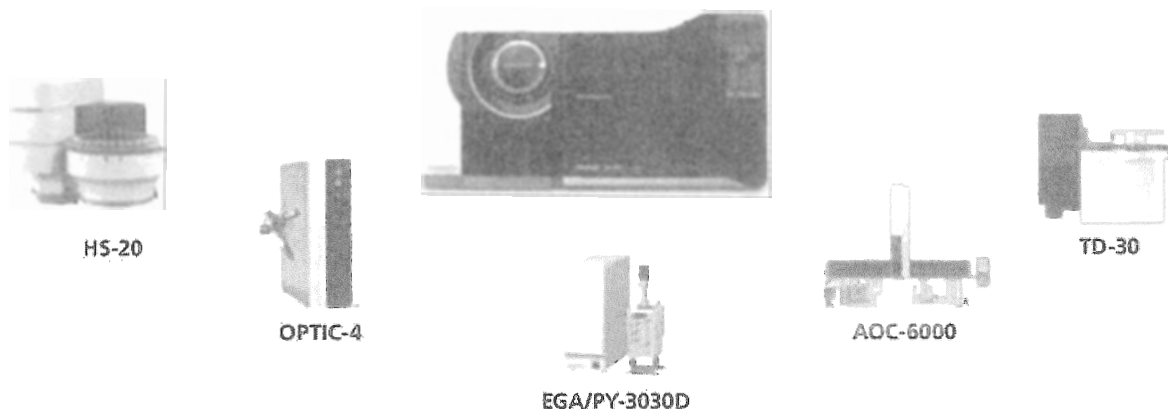
「におい」と一言と言っても色々なものがあり、好まれる“におい”は「香り」で、不快な“におい”は「臭い」となります。これらは食品産業においては、「香り」は問題ありませんが、「臭い」は、不快さやクレーム要因となります。したがって「におい」の分析は、食品の製品開発、品質保持等において重要な要素となります。

におい分析を考えると、におい成分の閾値（人間が検知できる最小濃度）は一般的に低く、その検出には試料を分析機器に導入する前に抽出・濃縮操作が必要になります。今回はガスクロマトグラフ-質量分析計（GC-MS）を用いた「におい成分分析」に用いられる試料の導入方法を中心に分析事例を紹介します。

“におい”の評価

におい分析の手法には、ヒトが“におい”を嗅ぎ、におい刺激による心理・生理的変化の感覚情報を得る「官能試験」と、種々の分析機器を用いて“におい”物質の物理・化学的性質を計測して物理化学的情報を得る「機器分析」があります。この「官能試験」では、においの質や感覚強度の情報が得られますが、評価が主観的となりやすく、再現性などが曖昧となるという問題点があり、「機器分析」では定性・定量の精度や再現性に優れており、客観的な評価ができる利点がありますが、測定結果と“におい”との関連付けが難しいという問題点があります。

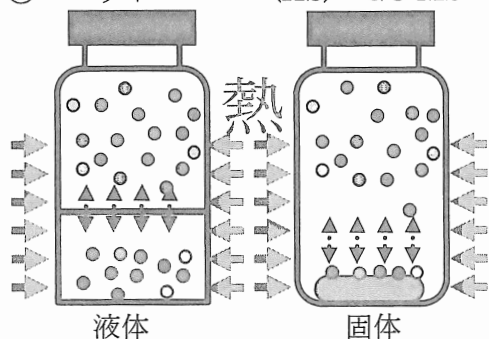
ここから「機器分析」の中で、GC-MSを用いた食品の“におい分析”例を紹介していきます。このGC-MSでは、クロマトグラムとマススペクトルの両方のデータを得ることができ、マススペクトルのマスパターンから“におい成分”の同定が容易に行え、またクロマトグラムが得られるため標準試料のピーク強度比較を行えば“におい成分”の定量も可能になります。



★1 GCMS で一般的に使われる“におい”の抽出・濃縮に方法は下記の3方法です。

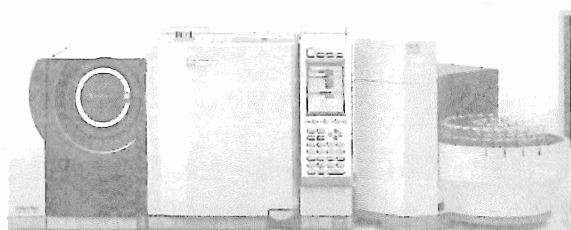
- ① ヘッドスペース(HS)–GC-MS
- ② 固相マイクロ抽出(SPME)–GC-MS
- ③ 固相吸着・加熱脱着(サマルティゾフシオン：TD)–GC-MS

① ヘッドスペース(HS)–GC-MS



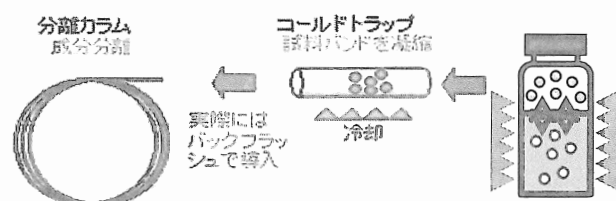
ヘッドスペース法とは、HS バイアルに試料を封入し、バイアル内に溜まった“におい”成分を分析する方法です。

HS 法の特徴は、液体から固体まで幅広い形態の試料を分析可能で、特殊な前処理が無いいため操作が容易です。しかし、試料導入量に制限があり、濃縮過程も存在しないため感度が低く、微量分析は難しくなります。

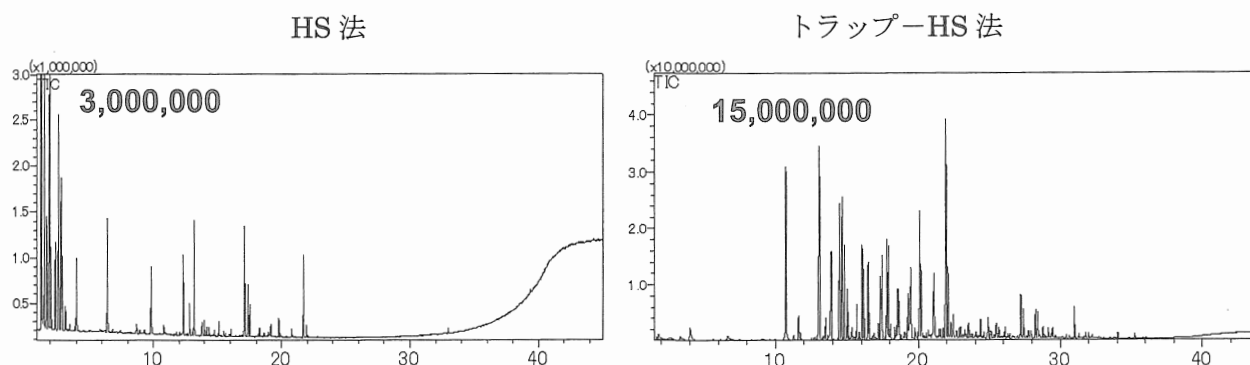


この HS 法を用いて高感度分析が行うためには、電子冷却トラップを内蔵したヘッドスペースサンプラーを用いることで、ヘッドスペースガスを濃縮し、高感度分析することが可能となります。

このトラップには疎水性の Tenax (吸着剤) を使用しているので、低沸点化合物の分析が可能となり、水分を含むサンプルの低沸点化合物から高沸点化合物までを濃縮して分析することができます。

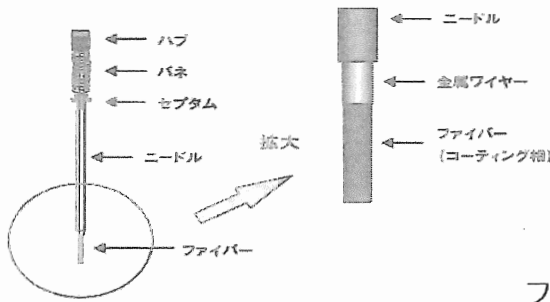


このトラップ法を用いることで、HS 法の注入ガス量を大幅に増やすことが可能となり感度を上げることができるので、“微量な”におい成分“の分析にも対応可能です。



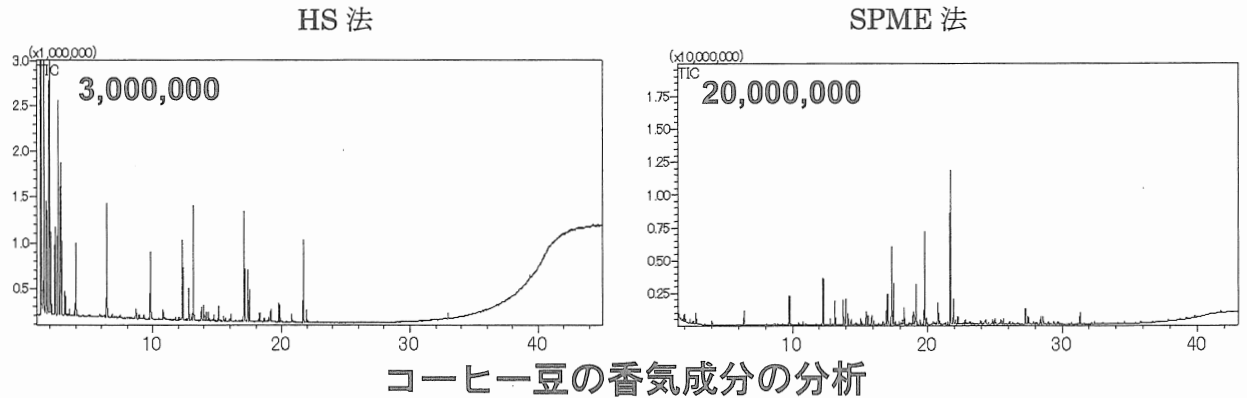
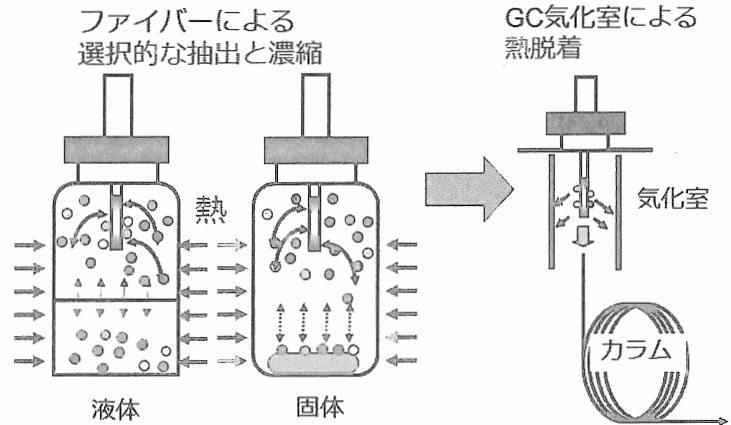
コーヒー豆の香気成分の分析

② 固相マイクロ抽出 (SPME) - GC-MS

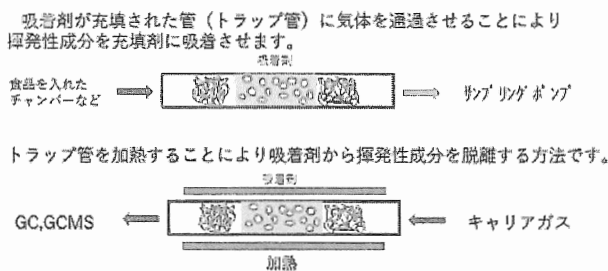


SPME 法は、ニードルの先端のファイバーの表面に各種液相を化学結合又はコーティングさせた吸着材に“におい成分”を吸着/濃縮させた後、GC 注入口で加熱脱着して測定する方法です。

この SPME 法は、ファイバーでの濃縮効果があるため、一般的な HS 法と比べ 10 倍程度の感度の向上が見込まれます。また、HS 法と同じく液体から固体まで幅広い形態の試料を分析可能であり、サンプルバックなどを用いることで、試料量を多くすることが可能です。しかしながら、ファイバーには選択性があるため、気相における“におい成分”の組成比を判断するのが難しくなります。

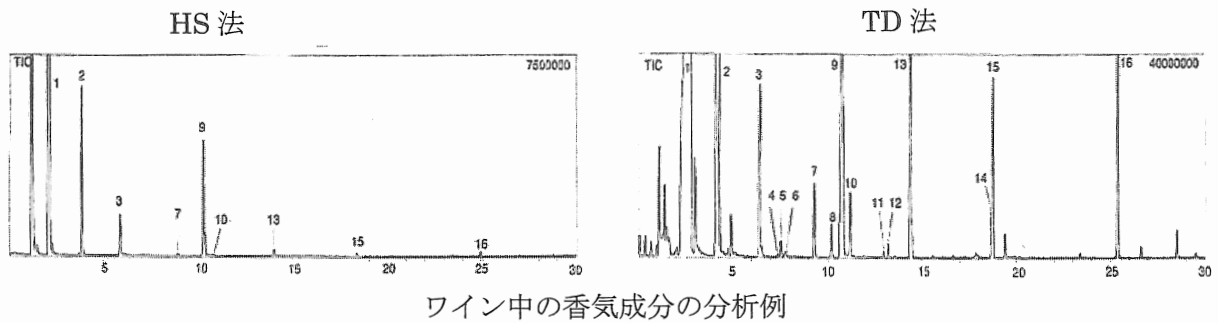


③ 固相吸着・加熱脱着 (サーマルデソープション: TD) - GC-MS



TD 法は、TENAX などの吸着剤を入れたトラップ管に“におい成分”を含むガスを通すことにより“におい成分”をトラップ管に吸着/濃縮した後、加熱脱着させて測定する方法です。

この TD はダイミック HS 法とも呼ばれ、“におい成分”を高感度で分析することができます。この方法も固相吸着/加熱脱着方式のため、吸着剤の選択性により、成分によって感度が異なることがあります。

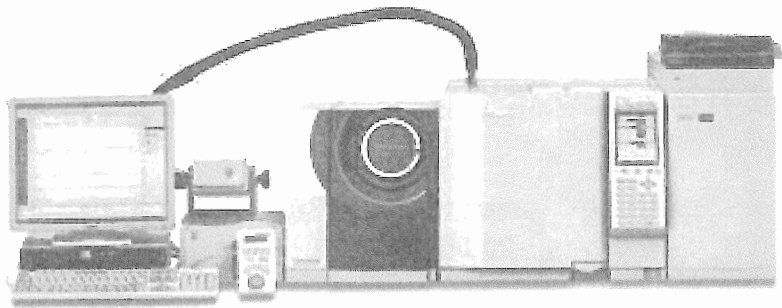


ワイン中の香気成分の分析例

基本的に TD 法は吸着剤に吸着した成分を測定するのが一般的ですが、空のトラップ管に食品を直接詰め、加熱することにより“におい成分”を測定することができます。この方法では“におい成分”を直接分析することができます。しかし、トラップ管が小さいため試料は少量しか使えませんので、高感度は望めません。

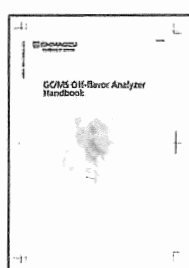
★2 「官能試験」と「機器分析」の融合

ここまで「機器分析 (GCMS)」の分析例を紹介しましたが、「官能試験」と「機器分析」組み合わせた分析システムもあります。このシステムでは、食品の“におい成分”を GCMS に導入し、GC カラムで分離した後、検出器の「MS」と「スニフingポート」に分岐し“分析機器”と“ヒトの鼻”の両方で検出し“におい”を特定するシステムです。



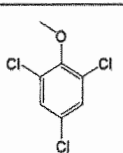
★3 「GC/MS 異臭分析システム」の活用

この「GC/MS 異臭分析システム」は過去の異臭事件で検出された成分に特化したノウハウを含んだデータベース化を行い、登録された保持指標により異臭成分を同定が簡単にできる様に分析メソッドを自動作成し、標準試料がなくても異臭成分の簡易定量ができ、さらに官能情報としてにおいの質、臭気閾値を登録されているので異臭特定の手助けになります。



データベースID	119
慣用名(英)	2,4,6-トリクロロアニソール
慣用名(和)	2,4,6-トリクロロアニソール
CAS番号	87-40-1
官能情報	カビ
臭気閾値	0.001

検出下限値 (S: < 1pg, A: 1-10 pg, B: 10-100 pg, C: 100-1000pg, D: > 1000pg)			
#	Inert Cap 5MS/Si	Inert Cap 17MS	Inert Cap WAX
SIMモード	S	A	A
MRMモード	S	S	S



ID#	化合物名	濃度	濃度単位	しきい値	カト
119	1-メチルナフタレン	検出レベルの濃度比が一致しません			
120	2,4,6-トリクロロアニソール	0.649	pg/mg	0.001	カビ
121	カブリン酸	6.539	pg/mg	10.000	銅
122	オイゲノール	0.549	pg/mg	1.000	木
123	2,4,6-トリクロロフェノール	0.692	pg/mg	100.000	樹脂、硝島
124	2,4-ジブロモフェノール	検出レベルの濃度比が一致しません			

<カタログ展示企業一覧>

(五十音順)

株式会社アイスティサイエンス
アジレント・テクノロジー株式会社
アステック株式会社
アナリティクセンス株式会社
エーエムアール株式会社
金陵電機株式会社
ゲステル株式会社
サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
ジーエルサイエンス株式会社
シグマアルドリッチジャパン合同会社
株式会社島津製作所
住友精化株式会社
テクノインターナショナル株式会社
東京化成工業株式会社
トレイジャンサイエンティフィックジャパン株式会社
西川計測株式会社
日本電子株式会社
日本分析工業株式会社
株式会社パーキンエルマー・ジャパン
林純薬工業株式会社
ピークサイエンティフィックジャパン株式会社
株式会社日立ハイテクサイエンス
LECO ジャパン合同会社
RESTEK コーポレーション

<広告掲載企業一覧>

(掲載順 (五十音順))

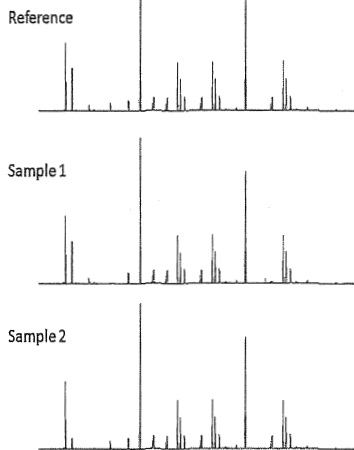
アジレント・テクノロジー株式会社
大阪ガスリキッド株式会社
日本電子株式会社
林純薬工業株式会社

クロマトグラムのパターンマッチング

OpenLab CDS MatchCompareソフトウェア

サンプル間の類似性をクロマトグラムにより自動判定し、数値化

クロマトグラム



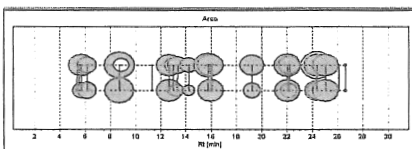
保持時間、面積により
ピークを4種類に分類

- ピークが一致 (リテンションタイム + 面積)
- リテンションタイムは一致、面積は基準値外
- リファレンスでのみ確認
- サンプルでのみ確認

判定結果サマリー

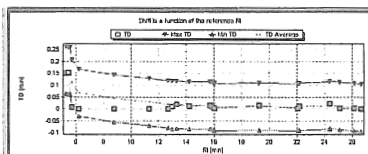


ピークの面積値



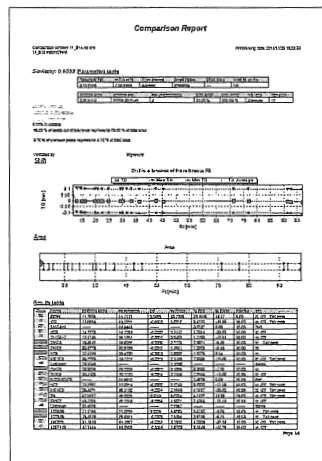
各ピークの相対的な大きさと分類を表示

リテンションタイムの差

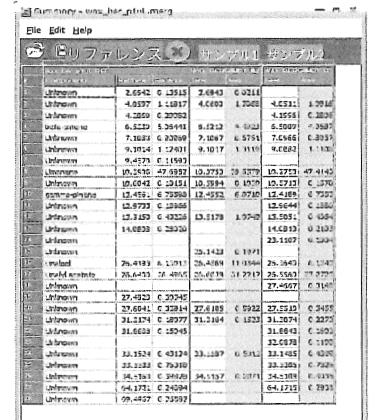


サンプルの各ピークとリファレンスのピークとの
リテンションタイムの差を表示

判定レポート



サマリー表示



複数サンプルの結果もまとめて表示

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町9-1
フリーダイヤル 0120-477-111
www.agilent.com/chem/jp

 **Agilent**
Trusted Answers

Fine Purer FPI-1GTR

不純物を
極限まで
除去

電源
BOX
一体型

1週間で
納品可能

新製品 ガスクロマトグラフ
ガス分析アプリケーション

Function 特徴

1 不純物を極限まで除去

適用ガス	希ガス：He, Ne, Ar, Kr, Xe
原料ガス中不純物濃度	トータル 10ppm (5N) 以下
精製ガス中不純物濃度	トータル 10ppb (8N) 以下
除去対象不純物	N ₂ , CH ₄ , CO, CO ₂ , O ₂ , H ₂ , H ₂ O

2 電源BOX一体型

電源BOXを標準装備し、構造をシンプル化

3 1週間で納品可能※

※複数台ご発注の場合はご相談下さい

Specification 仕様

最大流量	1.0L/min
最大圧力	1.0MPaG
常用圧力	0.5MPaG
寸法	φ114mm × H472mm
重量	7.8kg
電源(消費電力)	100VAC (55W)
接続	1/16in Swagelok(メス)

 大阪ガスリキッド株式会社

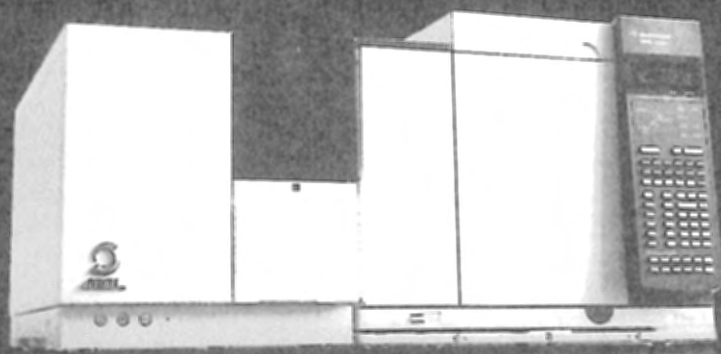
〒541-0041
大阪市中央区北浜四丁目7番19号 住友ビルディング第3号館5階
TEL. 06 (4706) 2701 FAX. 06 (4706) 2711 担当：加藤
<http://www.liquidgas.co.jp/>



Daigas
Group

大阪ガスグループは、Daigasグループへ。

残留農薬分析を高感度に、
分析スピードを従来の約3倍に



ガスクロマトグラフ三連四重極質量分析計
JMS-TQ4000GC

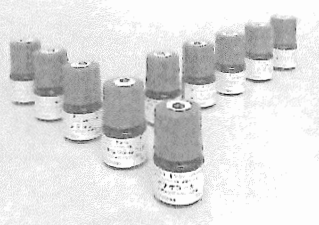
JEOL  日本電子株式会社

本社・沼島製作所 〒196-8558 東京都沼島市武蔵野3-1-2 TEL:(042)543-1111(大代表) FAX:(042)546-3353
www.jeol.co.jp ISO 9001:15014001 認証取得

JEOLグループは、「理科学・計測機器」「産業機器」「医用機器」の3つの事業ドメインにより事業を行っております。
「理科学・計測機器事業」電子光学機器・分析機器・計測検査機器 「産業機器事業」半導体関連機器・産業機器 「医用機器事業」医用機器

オフフレーバーキット

においの表現を共有化 することでオフフレーバー対応の迅速化に貢献します。



特徴

- 食品の特徴的なオフフレーバー事例から成分をピックアップし、プロピレングリコールで希釈したにおいサンプル
- 多くの人がにおいを判別できる濃度
- 調製の必要がなく、試験室をにおいで汚染しない

オフフレーバー研究会監修の技術資料が参照できます。

- ・ オフフレーバーキット各物質の解説(嗅覚閾値レベル, 臭事例, 物質の由来等)
- ・ オフフレーバーキットを用いた臭質体験・学習・判別トレーニング例
- ・ トレーニング例 付属-においの印象メモ
- ・ トレーニング例 付属-臭質判定記入用紙

技術資料はこちらから→http://www.fofsg.jp/?page_id=306



オフフレーバーキット

Code No. 56639 5ML×10成分入り(20,000円:税別)

化合物名	においの質
① グアヤコール	薬品臭
② ジメチルジスルフィド	腐敗臭
③ ナфтаレン	防虫剤臭
④ 2-メチルイソボルネオール	かび臭, 墨汁臭
⑤ トリメチルアミン	腐敗臭
⑥ 2,4-デカジエナール	油の酸化臭
⑦ トルエン	シンナー臭, 溶剤臭
⑧ 2,4,6-トリクロロアニソール	かび臭
⑨ n-吉草酸	不快臭
⑩ 2,6-ジクロロフェノール	消毒臭, 塩素臭

オフフレーバーキット II

Code No. 56666 5ML×9成分+ブランク入り(20,000円:税別)

化合物名	においの質
⑪ 4-メチル-3-ヘキセン酸	雑巾様臭, 生乾き臭
⑫ メチルエチルケトン	溶剤臭
⑬ 2,4,6-トリプロモアニソール	かび臭
⑭ 2-トリデカノン	樹脂様臭, 加熱劣化臭
⑮ 1-オクテン-3-オン	金属様臭
⑯ n-ヘキサナール	紙・段ボール様臭, 青臭い
⑰ n-ヘプタナール	魚様臭
⑱ 酪酸	腐敗臭
⑲ 酢酸エチル	シンナー臭
PG プロピレングリコール	においなし(ブランク)

一般社団法人 オフフレーバー研究会

東京家政大学 家政学部栄養学科内 <http://www.fofsg.jp/>
〒173-8602 東京都板橋区加賀1-18-1

オフフレーバーキットについてのお問い合わせは製造・販売元の
林純薬工業株式会社へお願いいたします。

TEL:06-6910-7290 FAX:06-6910-7300
E-mail:mpd@ml.hpc-j.co.jp <http://www.hpc-j.co.jp/>

GC 研究懇談会 運営委員名簿

2018年11月1日現在

役職名	氏名	所属名
委員長	佐藤 博	長崎国際大学
副委員長	和田 豊仁	(株)島津製作所
副委員長	川上 肇	アジレント・テクノロジー(株)
副委員長	前田 恒昭	元 産業技術総合研究所
	秋山 賢一	東京工芸大学
書記	安藤 晶	ジーエルサイエンス(株)
	岩崎 貴幸	(株)パーキンエルマー・ジャパン
新任	岩田 祐子	警察庁科学警察研究所
	植田 郁生	山梨大学
	内海 貝	Restek コーポレーション日本支社
書記	大川 真	(株)日立ハイテクサイエンス
交代	大塚 克弘	(株)総合環境分析
	大橋 眞	トレイジャン サイエнтиフィック ジャパン(株)
	大森 啓	トレイジャン サイエнтиフィック ジャパン(株)
	岡野谷 和則	日本たばこ産業(株)
	金井 良太	株式会社 MC エバテック
会計	金子 広之	東京化成製造サービス(株)
	金丸 新	ケイサイエンス株式会社
庶務・展示	神田 広興	ゲステル(株)
	岸本 徹	アサヒビール(株)
	木下 健司	(地独)東京都立産業技術研究センター
	小林 永佑	(株)島津製作所
	坂牧 寛	(一財)化学物質評価研究機構
	坂本 美穂	東京都立健康安全研究センター
	杉田 和俊	麻布大学
	園部 淳	(株)エア・リキード・ラボラトリーズ
	代島 茂樹	アジレント・テクノロジー(株)
新任	田丸 好美	東京化成工業(株)
	土屋 文彦	サーモフィッシャーサイエнтиフィック(株)
	中釜 達朗	日本大学
庶務・記念事業	中里 正光	ジーエルサイエンス(株)
	中村 貞夫	アジレント・テクノロジー(株)
	西島 功	日本電子(株)
	野口 政明	テクノインターナショナル(株)
	羽田 三奈子	アナリティクセンス(株)
	藤峰 慶徳	大塚製薬(株)
	本田 俊哉	(株)日立製作所

役職名	氏名	所属名
	松尾 俊介	(株)アイスティサイエンス
HP	山上 仰	西川計測(株)
	渡邊 卓朗	(国研)産業技術総合研究所
	鰐川 彰	アサヒビール(株)
地方委員(東北)	渡辺 壱	フロンティア・ラボ(株)
地方委員(中部)	津田 孝雄	(有)ピコデバイス
顧問・地方委員(関西)	小村 啓	元(公財)サントリー生命科学財団
顧問・地方委員(関西)	瀬戸 康雄	(国研)理化学研究所
地方委員(関西)	藤村 耕治	信和化工(株)
地方委員(関西)	古川 雅直	(株)島津製作所
地方委員(関西)	古野 正浩	大阪大学大学院
地方委員(関西)	森川 正己	エスアンドエー・ラボ(株)
地方委員(九州)	門上 希和夫	北九州市立大学
最高顧問・信頼性委員長	保母 敏行	東京都立大学
事務局	田中 久光	(公社)日本分析化学会

顧問(専任)

記念事業・アーカイブ担当	渡辺 征夫	元 国立保健医療科学院
	齋藤 壽	元 (株)島津製作所

「豊かで快適な生活を支えるガスクロマトグラフィー」 — 身近なおいを科学する —
(ガスクロマトグラフィー研究懇談会 第 362 回特別講演会 講演要旨集) 定価 2,000 円

2018 年 11 月 26 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

©2018, 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/>)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。