

ノート

ガスクロマトグラフ直結質量分析計による 輸入コーラベース中の芳香成分の分析

大野幸雄，出来三男

1. 緒 言

コーラ飲料の需要の急増につれて飲料ベースの輸入も多くなっているが、これら飲料のベースに使われる所謂コーラベースと称するものは成分的にも複雑で一般的な税表分類を行い難く分析の対象となる場合が多い。

税表分類上、重要な問題の一つに香料成分の有無および量比がある。これはコーラベースを調合香料があるいは食品に分類するかの鍵になると思われる。

従来、コーラベースを始めとする飲料用フルーツフレーバーの分析には高感度ガスクロマトグラフが利用されてきたが、芳香の割に成分量が極めて少ないものもあり、水蒸気蒸留などの濃縮分離法を併用しても成分の解明には困難な場合が多かった。しかし、分離手段として効果的なガスクロマト法を検知手段として感度の高い質量分析法との併用に成功して以来、従来困難であったこれらの問題もある程度解決されるようになってきた。

著者らはナツメグ油¹⁾、カシア油²⁾、ペパーミント油²⁾などの精油成分の分析にこのガスクロマトグラフ直結質量分析計（以下、GC-Mass と略称）を利用して特徴的微量成分の確認を行なってきたが、こゝではコーラベースの水蒸気蒸留物について直接本法を試みた結果、主要な芳香成分は質量スペクトルから検知でき天然精油の有無、調合性の判定などに利用できることが

判明したので報告する。

2. 実験方法および結果

2.1 試料および測定装置

実験に用いたコーラベースはすべて輸入品で、その性状は Table 1 に示すものである。

質量スペクトルの測定には日立 K-53 型ガスクロマトグラフ（自動昇温装置付）と日立 RMU-6E 型質量分析計をキャリヤーガス除去器として Watson Biemann タイプのヘリウムセパレーターによって直結した GC-Mass 計を用いた。

質量分析計の測定条件はイオン加速電圧 $m/e600$, 1.8KeV, イオン化電圧 70eV, 電子電流 $60 \mu A$ で、接続したガスクロマトグラフの条件は通常の水素炎イオン化検知方式のガスクロマトグラフに近似させた。

2.2 質量スペクトル測定用試料の調製

Table 1 に示すように、試料中には多量の不揮発成分を含有すること、香気成分が極めて少ないとから濃縮分離を目的として全て水蒸気蒸留法を採用し、留出液を塩析後エーテルで抽出、室温で減圧濃縮して測定用試料とした。

2.3 GC-Mass による分離芳香成分の質量スペクトルの測定

2.2 で得た濃縮液を直接ガスクロマトグラフに注入

Table 1. General Properties of Cola bases

No.	Sample	Colours and Solubility in water	Odours	Other component detected
A	Cola base No. 100	Brownish black liquid, soluble almost completely	Similar to cola	Calamel, Glucose
B	Cola paste DD	Brownish black paste, soluble	Not exhibit cola like odours	〃 〃
C	Essential oil compound cola non alcoholic	Brownish, very viscous liquid disperse in water	Similar to cola	Polysaccharide

この報文を“ガスクロマトグラフ直結質量分析計による精油類の試験法に関する研究”(第2報)とする。

大蔵省関税中央分析所 千葉県松戸市岩瀬 531

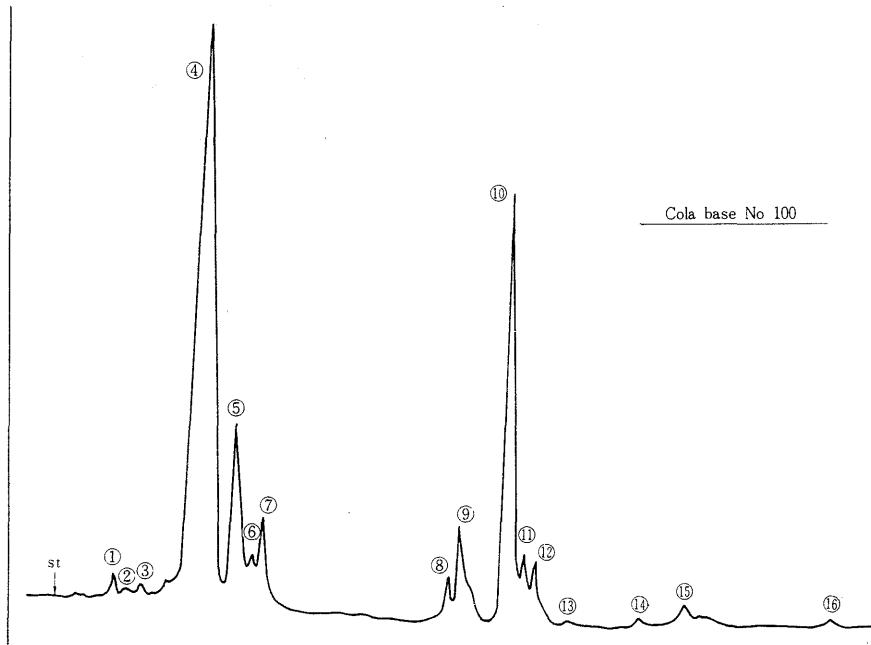


Fig.1 Gas chromatogram of cola base volatiles detected by Total Ionic Monitor

Column : PEG-20M. 2m

Inj. Temp. : 250

Temp. : 70 ° ~ 220 (5 °/min)

Aux Temp. : 200

Carrier Gas : He. 0.15 kg s/cm²

Sample Size: 0.2 μl

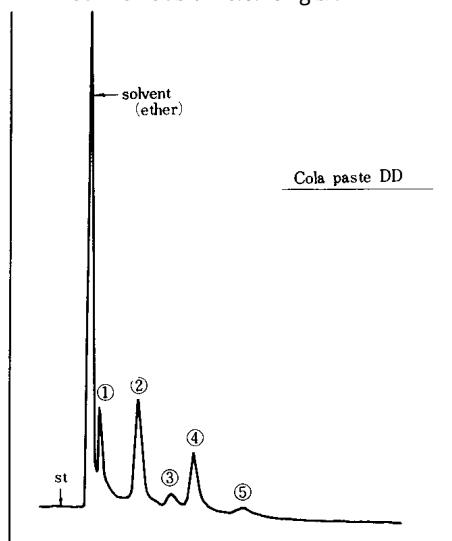


Fig.2 Gas chromatogram of cola base volatiles detected by Total Ionic Monitor

Column : SE-30. 2m

Column Temp. 80 ° ~ 120 (4 °/min)

Carrier Gas. He, 0.15 kg s/cm²

Inj. Temp 200

Aux Temp 180

Sample size 0.1 μl

し、質量スペクトルの測定を行なった。クロマトグラムは全イオン量の約半分を全イオンモニターに分岐しクロマトグラムを画かせ、各ピークの頂点でビジコーダーにより質量スペクトルを連続的に記録した。二次電子増倍検出器の感度は通常の条件を用い出現ピークの大小により EM 電圧を調節した。

2・4 結果および考察

Fig. 1, 2, 3 に各試料中の揮発性成分による全イオン検知ガスクロマトグラムを示す。カラムに PEG - 20M を使用したのは 220 附近までは液相の流出により質量分析計のバックグランドを汚さず、テルペン炭化水素類相互と他のテルペンアルコール、アルデヒドなどの芳香成分を良く分離することによる。

Fig. 4 は試料 A, C に共通して検出されたテルペン炭化水素成分の質量スペクトルである。PEG-20M カラムではこの附近に現れる成分の大部分はモノテルペン炭化水素で、これらはベースピーク、M⁺イオンおよび各成分に特徴的な開裂様式に帰因する二、三のフラグメントイオンおよび関連する準安定イオンの存在から成分の同定は可能である。また、熱的安定性の少ないフェランドレンやテルピネンもこの測定条件で安定

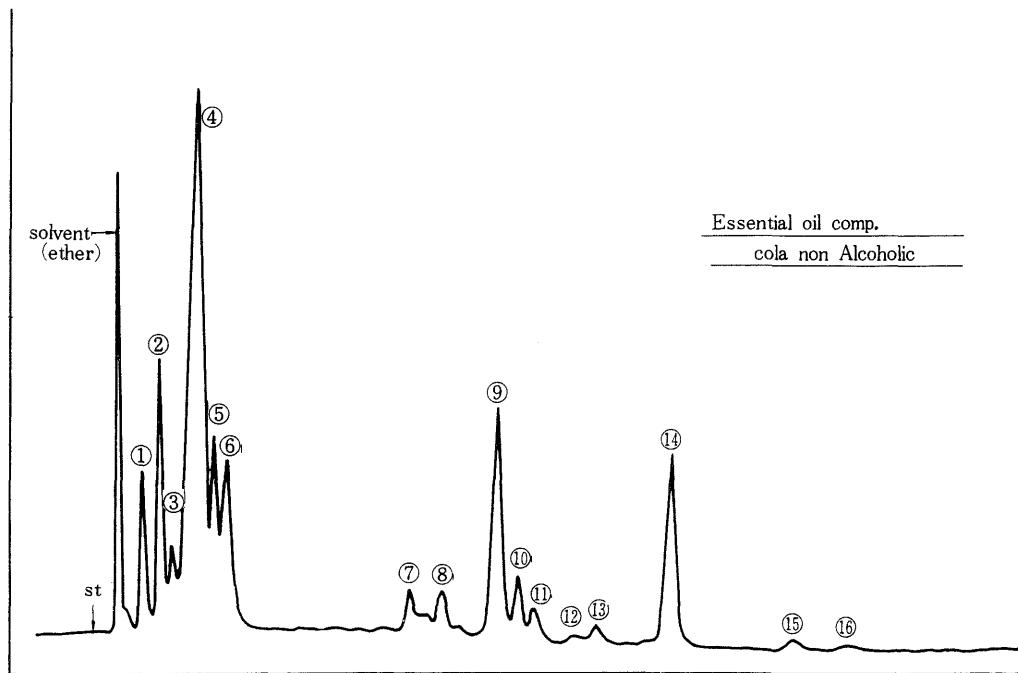


Fig.3 Gas chromatogram of cola base volatiles detected by Total Ionic Monitor

Column : PEG-20M 2m

Inj.Temp. : 220

Temp. : 80 ° ~ 200 (5 /min)

Aux.Temp. 200

Carrier Gas : He.0.15 kg s/cm²Sample Size : 0.2 μ l

であることは $m/e 119$ のイオン強度が極めて小さいことが示している。⁸⁾ 一般に質量スペクトルから異性体を区別することは困難ではあるが、テルペン炭化水素類の開裂では出現イオンに強度の違いが現れる場合が多く再現性も良好であるので同定に利用できる場合が多い。すなわち、ピネンでは 体にくらべ 体の $m/e 69$ が、フェランドレンでは 体は 体にくらべ $m/e 119$ の強度に極めて差があること、またテルピネン類では $m/e 121$ がベースピークとなるのに対し、 体では $m/e 93$ がベースピークを与える。

したがって、ピークの重複がない限りこれら炭化水素は再現性の良い質量スペクトルを与えるので同定には特に標準品を必要としない。

PEG-20M カラムでは炭化水素類の次にテルペンアルコール、ケトンなどの芳香成分が溶出してくるが、この領域にはセスキテルペン類の一部も現れ、ピークが重なり質量スペクトルからの同定に障害となる場合もある。

Fig. 5 は試料 C の高沸点成分の質量スペクトルで、ピーク 7, 9 はリナロールおよび - テルピネオールであるが GC-Mass による測定ではこれらは親イオン ($M^+ = 154$) を示さず $M-15$, $M-18$ などが最高質量

部に認められる。特にリナロールの場合に他の非環式テルペンアルコールに特徴的なベースピーク、 $m/e 69$ を示さないのは第一アルコールより脱離し易い第 3 炭素につく水酸基を有するためと考えられる。また Sydow⁴⁾によるリナロールの $M+1$ イオン（親イオン）も認められないで、イオン量の少ない場合にはリナロールの質量スペクトルは炭化水素と類似したパターンを示すためにこれらと誤認し易い。したがってガスクロマトグラフィーにおいて他のカラムを使用する場合にはリナロールの出現位置を確認する必要がある。

ピーク 9 はガスクロマトグラフによる分離が十分でないためにテルピネン-4-オールとセスキテルペンのスペクトルが重複したものであるが、テルピネン-4-オールの標準スペクトルの特徴（ベースピーク $m/e 71$ 、その他 86, 93, 111, 154 など）とピーク 11, 12 に示すセスキテルペン類の比較から両者のスペクトルの重なりであることは明らかである。

ピーク 11, 12 の質量スペクトルにおいて、いずれもベースピーク 69 を示すことは末端がイソプロピリデン型構造を有し、また、 M^+ イオンとして 204 を示すことからカリオフィン、ピサボレンのような $C_{15}H_{24}$ の非環式または単環式セスキテルペンと考えられるが直

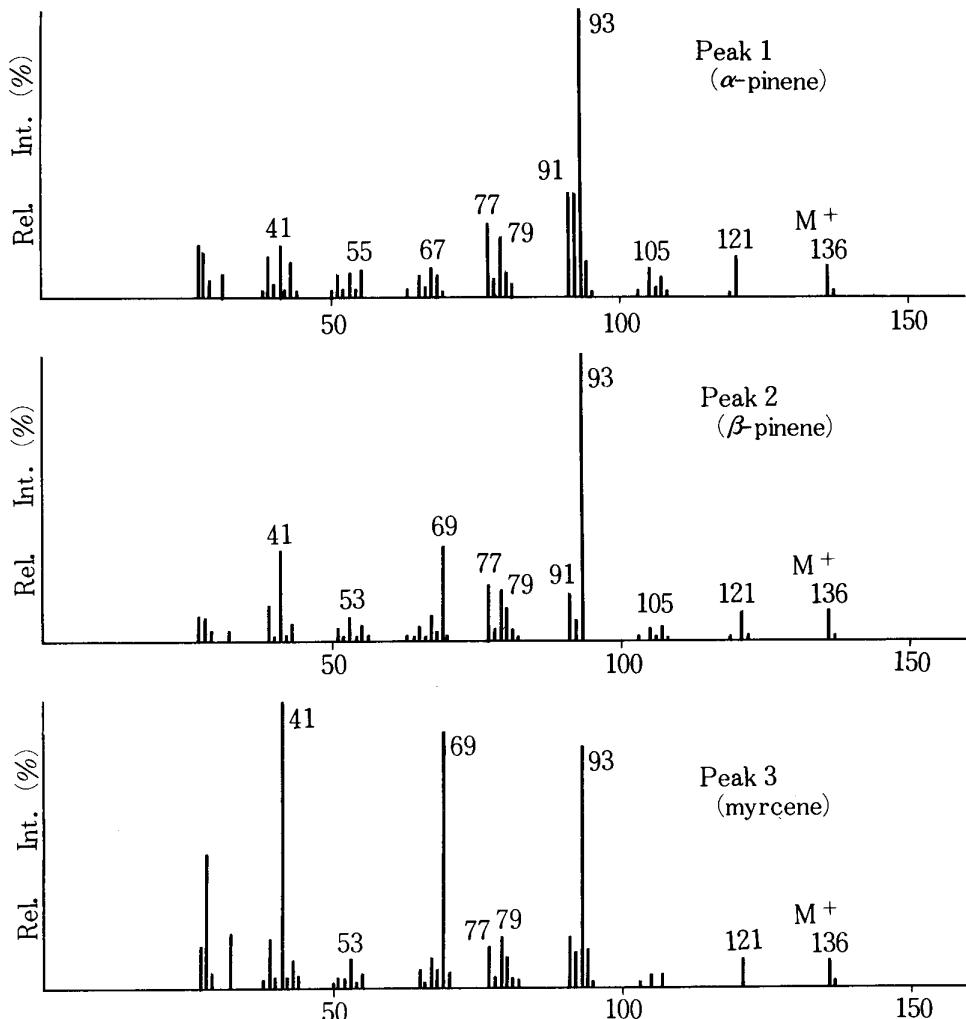


Fig.4-a Mass Spectra of terpenic hydrocarbons in cola base(cola non alcoholic)

接質量スペクトルから判定することは困難である。ガスクロマトグラフによる保持時間あるいは標準品との比較が必要である。なお、これらセスキテルペソ類が明らかになれば、他の特徴的精油成分との関係から調査に用いた天然精油推定の手がかりにもなると考える。

ピーク 15 はシンナミックアルデヒドで $m/e 131(M-1)$ がベースピークとなり、103, 77 のフラグメントイオンは $-CH=CH-CHO$ の脱離によるもので構造との対比は容易である。類似した開裂は O-メトキシンナムアルデヒドやケイ皮酸エステル類にも共通して起るので質量スペクトルからこれら成分の同定は可

能である²⁾。

ピーク 16 はミリスチシンで、これはサフロールとともにナツメグ油の特徴成分である⁸⁾。ミリスチシンの質量スペクトルは M^+ がベースピークとなり、メトキシ基の脱離による $m/e 177(M-CH_3)$ および $m/e 161(M-OCH_3)$, $m/e 165(M-CH=CH_2)$ 。M-45 のメチレンジオキシ基の開環、脱ホルミルによる $m/e 47$ の生成、さらにこの脱 CO による $m/e 119$ の特徴的なフラグメントイオンを示す。なお芳香成分としてこのミリスチシンを含むことはナツメグ油の存在を示すものと考える。

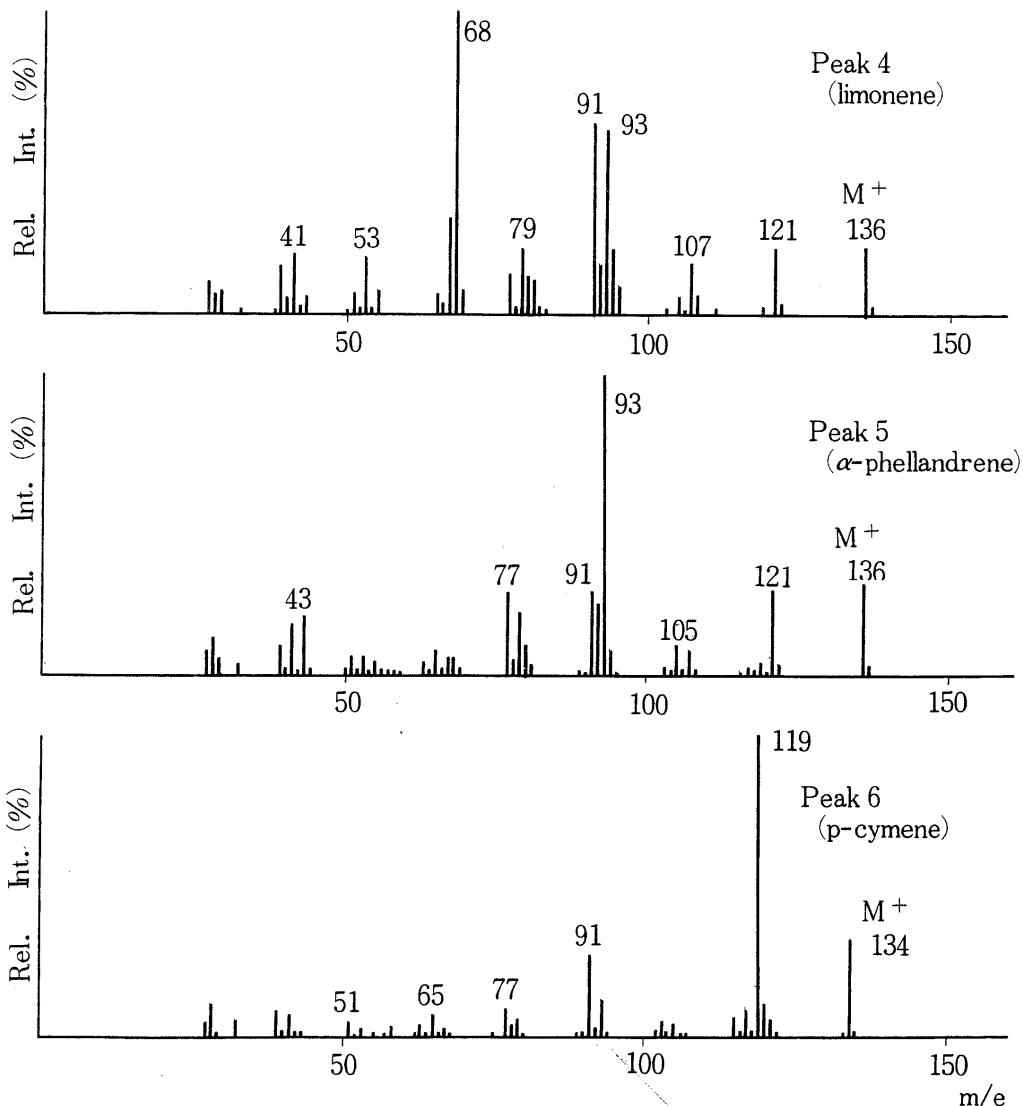


Fig.4-b Mass spectra of terpenic hydrocarbons in cola base(Cola non alcoholic)

試料Aは試料Cにほとんど共通したモノテルペン炭化水素およびテルペナルコールを有するが高沸点部には少量のオイゲノールや安息香酸ベンジルのピークを含む点で異なる。これらの質量スペクトルでは芳香族化合物特有の単純な開裂を示すので構造と容易に対応させることができる。

コーラペーストの揮発性成分は試料A, Cと異なり、コーラ臭を示さず各ピークの質量スペクトルはFig.6に示すように酢酸, フルフラールおよびその誘導体のスペクトルを与え精油成分は全く検知されない。

フルフラール誘導体の質量スペクトルはその母核を

なすフルフラールの開裂機構から容易に類推することができる。母核のフラン環の芳香族性のために分子イオンが非常に強くスペクトル上に現れ、開裂はC-O結合が切れたのち4-5結合で切断が起りフオルミル基を放出し、正電荷は三員環に残り2電子系のシクロプロペニルイオン(m/e39)を生成する⁶。

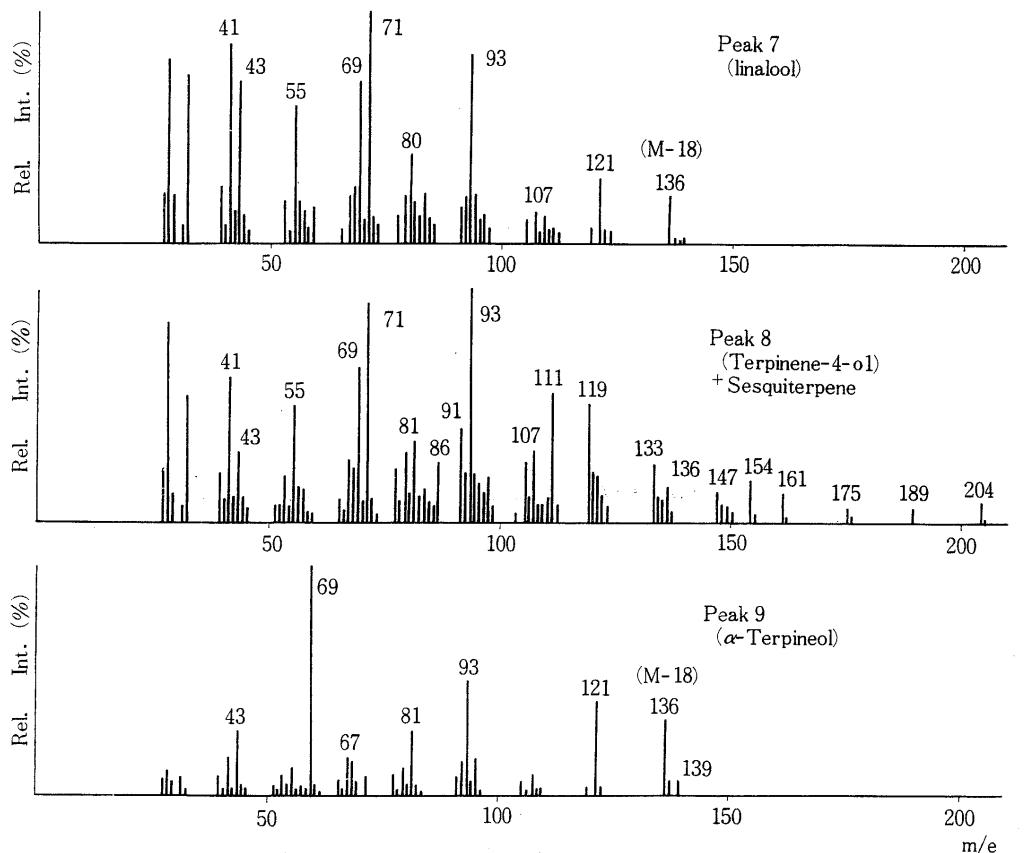
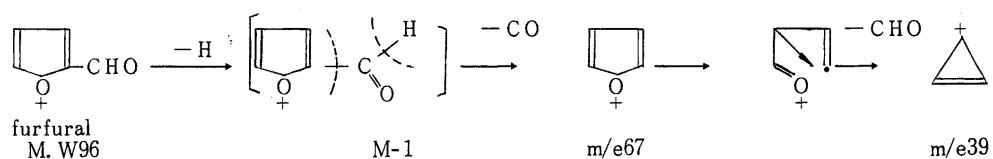


Fig.5-a Mass Spectra of terpenic alcohols in cola base(Cola non alcoholic)



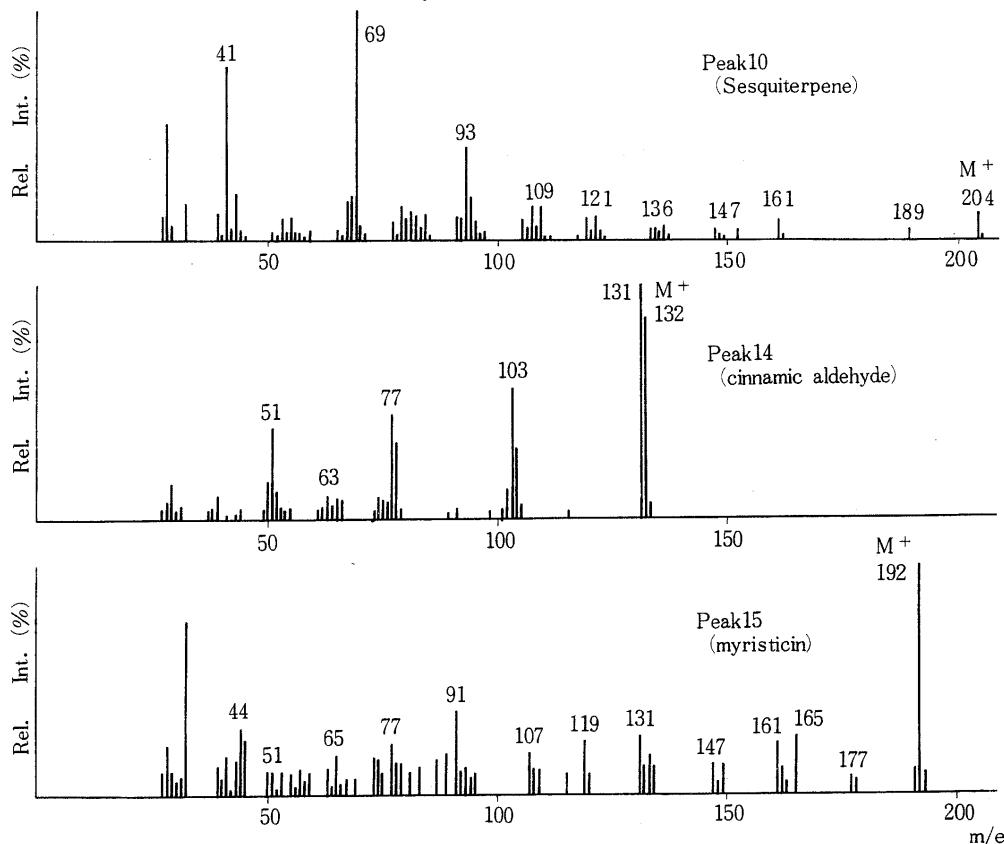
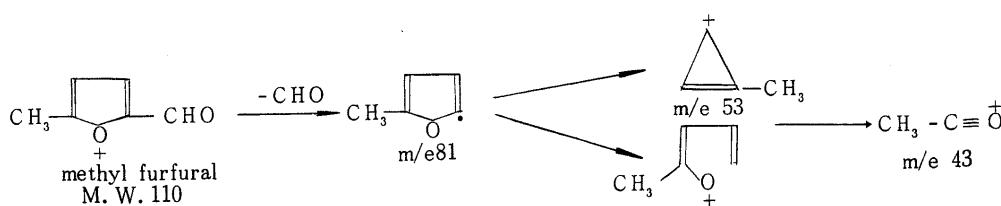


Fig.5-b Mass spectra of compounds in cola base(cola non alcoholic)



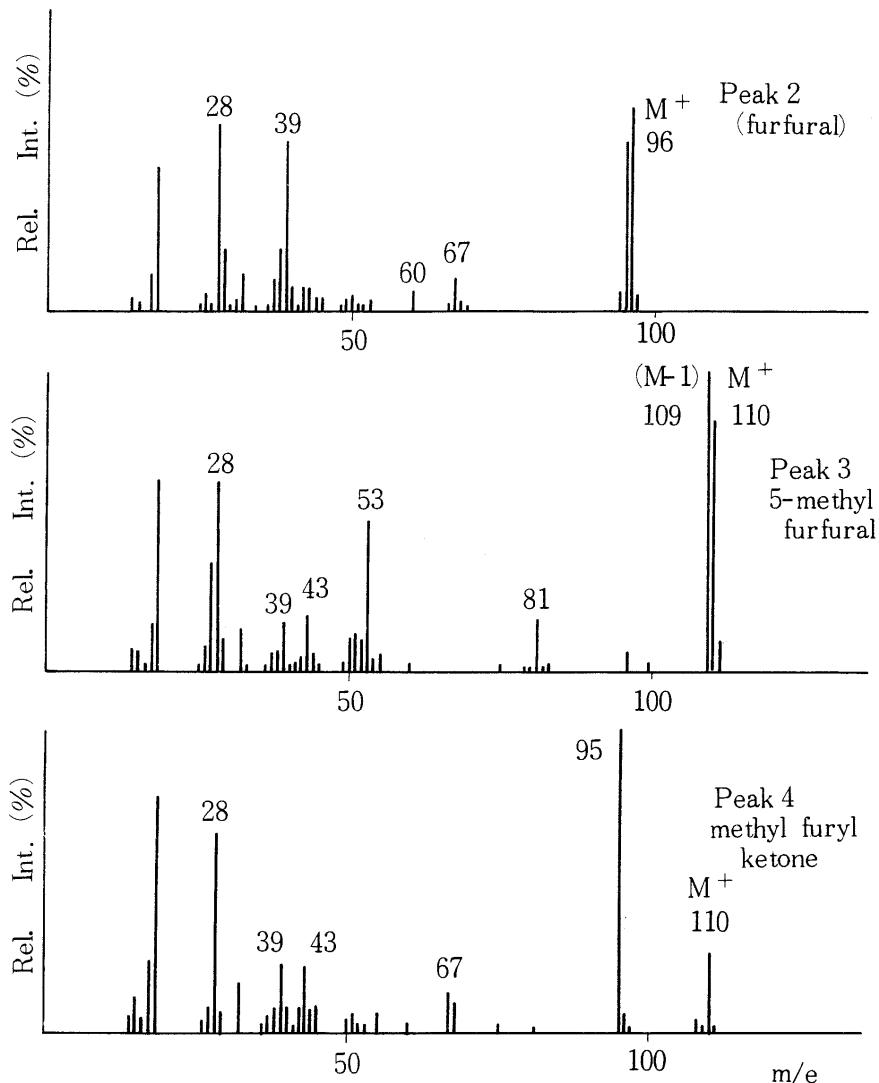
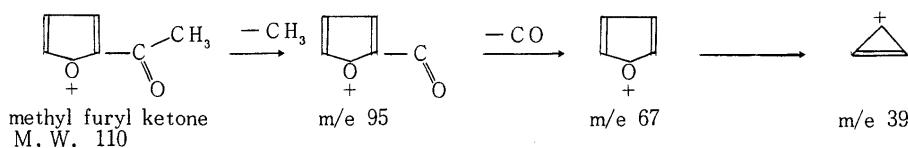


Fig.6 Mass spectra of volatile Compounds in cola paste DD



とくに、位に置換基を持つ場合にはメチルシクロプロペニルイオン, m/e 53($R + 39$)のようなフラグメントイオンを示すので、位の置換基の存在を決定する際に重要な知見を提供する。なお、フラン系化合物

に出現する高質量部の強いフラグメントイオン(親イオンを含め)は質量スペクトルからは一般的の芳香族化合物と誤認する恐れもあるが、ベンゼン環に起因するフラグメントイオン、例えば m/e 91, 77, 65などの有

ノート ガスクロマトグラフ直結質量分析計による輸入コーラベース中の芳香成分の分析

無, 強度を考慮することで確認できるものと考える。

試料 B が酢酸, フルフラールおよびその誘導体を揮発成分とすることは糖質のカラメル化の際に副成されたものと推定される⁷⁾。

試料 A, B, C の揮発性成分について質量スペクトルから同定されたものは Table 2 のとおりである。

Table 2. Volatile Compounds Identified in Cola bases

Peak No.	Cola base No.100	Cola paste DD	Cola non Alcoholic
1	α -Pinene	aceitic acid	α -pinene
2	β -Pinene	furfural	β -pinene
3	myrcene	5-methyl furfural	myrcene
4	limonene	methyl furyl ketone	limonene
5	α -phellandrene		α -phellandrene
6	P-Cymene		p-cymene
7	α -Terpinene		linalool
8	fenchyl alcohol		terpinene-4-ol
9	terpinene-4-ol		α -terpineol
10	+ sesquiterpene (M. W. 204) α -terpineol		sesquiterpene (M. W. 204)
11	Sesquiterpene (M. W. 204)		sesquiterpene (M. W. 204)
12	Sesquiterpene (M. W. 204)		thymol
13	?		aromatic aldehyde (M. W. 132)
14	cinnamic aldehyde		cinnamic aldehyde
15	eugenol		myristicine
16	benzyl benzoate	.	methyl eugenol

3. 結論

コーラベース中の揮発性芳香成分を水蒸気蒸留法により分取し直接 GC-Mass 計に導入して各分離成分の質量スペクトルから成分の固定を行なった結果, 主要な香気成分は確認できた。本試料の如きセスキテルペソ類を含む場合には PEG-20M カラムではテルペニアルコール, ケント類の出現位置に重なってでる傾向があり, スペクトルの重複の影響はまぬかれ難いがモノテルペソ炭化水素類との分離は極めて良く, しかもカラ

ム温度 220 附近まではカラム液相によるバッグランドの影響はほとんど認められないので, GC-Mass 法による精油成分検索用カラムとして適当と考える。

また, 本法においては試料量は 0.1 ~ 0.2 μ l で十分であるので食品香料の如き一般に芳香成分の少ない試料について芳香成分の概略を知る場合には本法は極めて有効であると考える。

文 献

- 1) 大野幸雄, 出来三男, 関税中央分析所報 No.8, 1 (1969)
- 2) 大野幸男, 出来三男, 未発表
- 3) R. Ryhage, E. Sydow, Acta chemica Scand. 17 2025(1963)
- 4) E. Sydow; Acta chemica Scand. 17 2504(1963)
- 5) E. Guenther; The Essential oil vol5 p59(1952)
- 6) H. Budzikiewics, C. Djerassi, D. H. Williams; Interpretation of Mass Spectra of organic compounds p211(1964), Holden Day, Inc.
- 7) V. J. Filipic, J. C. Underwood, C. J. Dooley; J. of Food Science, 34, 105 (1969)

Analysis of Flavour components in imported cola bases by mass-spectrometer combined with Gas chromatograph

Yukio ONO
Mitsuo DEKI
Central Customs Laboratory
531 Iwase Matsudo City, Chiba Pref.,

Received Sep. 30, 1969