

報 文

揮発性カルボニル化合物の 2, 4-DNPH の GC-Mass による分離確認*

出 来 三 男**

揮発性カルボニル化合物を 2, 4-DNPH として捕集し、これを Mass 及び GC-Mass により分離確認する方法について検討した。これらのカルボニル化合物の 2, 4-DNPH はいずれも分子イオンピークが観察され、C₂~C₅ の脂肪族アルデヒドでは分子イオンが基準ピークとなっている。C₄ 以上では McLafferty 転移により、γ 開裂によるイオンピーク M-42 及びこのイオンから脱水された M-60 のピークが特徴的である。ニトロベンゼンによる特徴ピークは 2, 4-DNPH では顕著でない。芳香族及びフラン系カルボニル化合物は分子イオンのほかに芳香環、フラン環による特徴ピークが観察される。OVI (2%) をカラム充てん剤とした GC-Mass により脂肪族アルデヒドを 2, 4-DNPH として分離確認できた。GC により分離検出される 2, 4-DNPH は充てんカラム内で分解されることなしに検知されることをマススペクトルから明らかにした。

これらの方法を泥炭でくん蒸した麦芽の水蒸気蒸留によって生成する揮発性カルボニル化合物の分離同定に利用し、formaldehyde, acetaldehyde, propylaldehyde, n-butylaldehyde, isobutylaldehyde, n-valeraldehyde, isovaleraldehyde, capronaldehyde 及び furfural を確認した。

1. 緒 言

揮発性カルボニル化合物は食品香気の重要な要素の一つであるため各種の食品及び食品原料について多くの研究がなされている。特に穀粉を主原料とする食品のフレーバーのうち、カルボニル化合物の非酵素的生成については、Wiselblatt ら¹⁾ によるパンのオープンガス中のカルボニル化合物の挙動、清水ら²⁾ の麦茶の揮発性モノカルボニル化合物の確認、Walter ら³⁾ 及び Bryce ら⁴⁾ の炭水化物熱分解物中のカルボニル化合物の生成機構など多数の報告があり、食品の加熱によって生成するフレーバーとカルボニル化合物との関係が検討されている。^{5), 6), 7)}

これらの揮発性カルボニル化合物は食品中に微量しか存在しないのでそれを直接分離同定するには多くの困難がある。一般には 2, 4-ジニトロフェール誘導体 (2, 4-DNPH) として捕集し濃縮する方法がとられている。2, 4-DNPH として濃縮されたカルボニル化

合物は結晶性物質として得られるので取扱いが簡便であり、また、微量のカルボニル成分が比較的多量に捕集できる利点がある。2, 4-DNPH 混合物の相互分離には液体カラムクロマトグラフィー (LC)、ペーパークロマトグラフィー (PPC) 及び薄層クロマトグラフィー (TLC) などが利用されており、赤外線吸収スペクトル (IRS) 及び可視部吸収スペクトル (VIS) の併用により化合物の分離確認を行なっているが、混合物からの分離は分析所要時間が長く、精度も十分なものではない。Ralls⁸⁾ 及び Stephens ら⁹⁾ は 2, 4-DNPH を α-ケト酸と共存させて熱分解し、再生したカルボニル化合物を直接ガスクロマトグラフィー (GC) で分離し、ピークの保持時間から化合物を同定する方法により多数の飽和脂肪族化合物を確認している。山西ら¹⁰⁾ もゴマ油香気のカルボニル化合物を Girard T reagent により分別し、再生 GC により多数のカルボニル化合物を同定している。この酸性物質との接触分解反応によるカルボニル化合物再生法はガスクロマトグラフと直結した熱分解装置が必要であり、また、比較的多量の試料を用いなければならない欠点がある。

Soukup ら¹¹⁾ は固定相液体としてシリコン SF96 を充てんしたカラムを用い、カラム温度 200~250℃ の条件で 2, 4-DNPH を直接ガスクロマトグラフに注入す

* 本報を「麦芽の香気成分に関する研究 (第 2 報)」とする。
「泥炭乾燥麦芽の揮発性物質について」(本誌 No.10 (1970))
を「麦芽の香気成分に関する研究 (第 1 報)」とする。

ることによって数種のアルデヒド類及びケトン類を分離している。柴崎ら¹²⁾ はみそのヘッドスペースに含まれるカルボニル化合物を TLC を併用することにより同定しており、清水ら¹³⁾ も数種のカルボニル化合物の 2, 4-DNPH について GC による分離条件を検討し、同族体では炭素数と保持時間の対数との間に直線関係があることを明らかにし、この方法をばい焼でん粉のカルボニル化合物の分離確認に応用している¹⁴⁾。さらに Kallio ら¹⁵⁾ は 2, 4-DNPH の微量分析化について検討し、GC 分離の検知器として ECD を用いると FID の 500 倍も感度が増すことを報告している。

このように GC による 2, 4-DNPH の直接分析は食品中の微量カルボニル化合物の迅速分離に有効な手段であるが、GC で分離した各ピークの確認は標準添加法又は保持時間などから化合物の種類を決定しなければならず、未知試料混合物では個々の成分を確認するのに多大の労力を必要とする。

質量分析計 (Mass) は化合物の分子量及び分子構造を確認するのに有効であり、さらに GC と直結した質量分析計 (GC-Mass) は微量の揮発性化合物の分離確認に不可欠なものである。Halvarson¹⁶⁾ は発酵ソーセージのカルボニル化合物の 2, 4-DNPH を再生 GC 法で分離し、直接 GC-Mass により遊離したカルボニル化合物のマスペクトルを測定して約 15 種類のカルボニル化合物を同定している。

この報文では、2, 4-DNPH を TLC 及び LC で分離したものについて直接ガラス導入部を用いてマスペクトルを測定して確認する方法ならびに 2, 4-DNPH を直接 GC-Mass に注入してマスペクトルを測定し、カルボニル化合物を 2, 4-DNPH として同定する方法を検討したので報告する。さらに、この方法を泥炭くん蒸麦芽芽を水蒸気蒸留して得られる揮発性カルボニル化合物の分離確認に応用した。

2. 実験方法

2・1 標準 2, 4-DNPH の調製

標準のカルボニル化合物として次の市販品を用いた。

Acetaldehyde, propionaldehyde, n-valeraldehyde, isovaleraldehyde, crotonaldehyde, isobutylaldehyde, capronaldehyde, furfural, anisaldehyde, furfuryl methylketone, 5-methylfurfural.

各種カルボニル化合物を 0.2% 2, 4-DNP の塩酸溶液 (2N 塩酸 11 に 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン 2g を溶かしたもの) にかく拌しながら加え、1夜室温に放置したのちガラスフィルターでろ過し、2, 4-

-DNPH を集め、これを 2N 塩酸と水で洗浄する。2, 4-DNPH はシリカゲルデシケーター中で減圧下で乾燥した。

2・2 ガスクロマトグラフィーの条件

装置：島津 GC 5 APF, FID 検知器。

OV 1 (2%) (Chromosorb GAW, 80~100 メッシュ) をカラム充てん剤としたガラスカラム (2m×3mm) を用い、カラム温度は 190℃及び 190~300℃, 5℃/min とし、キャリアーガスは He (60ml/min), 注入口温度は 300℃とした。

2・3 質量分析計の測定条件

装置：日立 K-53 型 GC 直結の RMU-6 E 型質量分析計及び日立 RMU-7 型二重収束質量分析計, JASCO-finnigan 3100 型四重極質量分析計 (GC 直結)。

測定条件はイオン加速電圧 1.8kv, イオン化電圧 70ev, 電子電流 60μA, イオン源温度 200℃であり、GC-Mass の GC 測定条件は 2・2 に従った。

2・4 薄層クロマトグラフィーの条件

厚さ 0.25mm のシリカゲル薄層板を用い、展開溶剤としてリグロイン-石油エーテル-クロロホルム (60:60:10v/v%) を用い上昇法により展開した。2, 4-DNPH は黄色のスポットとして検出できるが、さらにアルコール性 KOH 溶液を噴霧する方法を併用した。

2・5 揮発性カルボニル化合物の捕集

麦芽を常法により N₂ 気流中で水蒸気蒸留し、留出する揮発性カルボニル化合物を 2, 4-DNP 塩酸溶液に吸収させた。沈殿した 2, 4-DNPH はろ過により集め、2N 塩酸、水で順次洗浄したのち真空デシケーター中で乾燥した。留出液中のカルボニル化合物を捕集するために留出液の最終濃度が 2N になるように塩酸を加えたのち、これに最終濃度が 0.2% となるように 2, 4-DNP をかく拌しながら加え 1 夜室温に放置し、沈殿した 2, 4-DNPH をろ過により集め、2N 塩酸で洗液が無色になるまで洗浄し、つぎに水で洗浄したのち減圧デシケーター中で乾燥した。

麦芽からのカルボニル化合物の捕集の概要を Fig.1 に示した。

3. 結果と考察

3・1 2, 4-DNPH のマスペクトル

アルデヒドのマスペクトルは 脂肪酸化合物ではカル

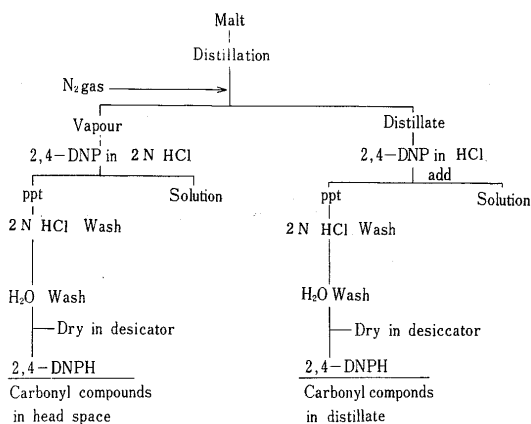


Fig.1 Separation of 2, 4-DNPH of volatile carbonyl compounds in malt

ボニル酸素の非結合性電子が脱離することによって起こる分子イオンと、続いて起こる C-C の α 又は β 結合の開裂によって特徴づけられている。¹⁷⁾ 芳香族化合物では脱水素による $M-1$ イオンが特徴的なほかはフェニル化合物に共通した開裂様式に従うため、それほど顕著な特徴はみられない。フランアルデヒド類も芳香族アルデヒドと類似したイオンピークが現われる。これらのカルボニル化合物の 2, 4-DNPH は低い蒸気圧にもかかわらず明瞭なマススペクトルを与える。

アセトアルデヒドでは Fig.2 に示したように 2, 4-DNPH の分子イオン $m/e 224 (M^+)$ のピークが強く現われており、その相対強度は基準ピークの約 95% である。2, 4-DNPH のニトロ基に特徴的な P-O, P-NO, P-NO₂ などのイオンピークは顕著でない。 $m/e 180$, $m/e 152$, $m/e 122$ などの特徴的なイオンピークは 2, 4-DNPH から対応するアルデヒド部分が開裂して生じたニトロベンゼン核を含むイオンによるものであり、このフラグメントイオンから NO が脱離して生じたイオンピーク $m/e 79$ が基準ピークとなっている。

プロピルアルデヒドの場合も同様なマススペクトルを与えるが、2, 4-DNPH の分子イオン $m/e 238 (M^+)$ が基準ピークとなっており、Fig.3 に示したように $m/e 180$, $m/e 152$, $m/e 122$ 及び $m/e 79$ にアセトアルデヒドと共通のイオンピークが現われており、これらの各イオンピークは Fig.4 に示したようにニトロ基を含むベンゼン核に由来していることが精密質量分析の結果から示唆される。

すなわち、 $m/e 180$ は精密質量分析によると $C_6H_4N_4O_3$ のイオンピークであり、これは 2, 4-DNPH の-N

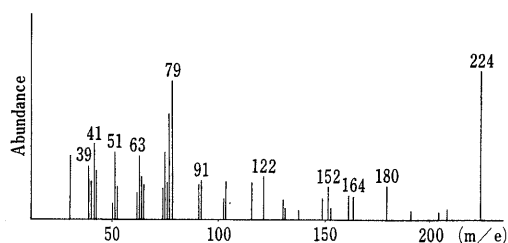


Fig.2 Mass spectrum of acetaldehyde-2, 4-DNPH

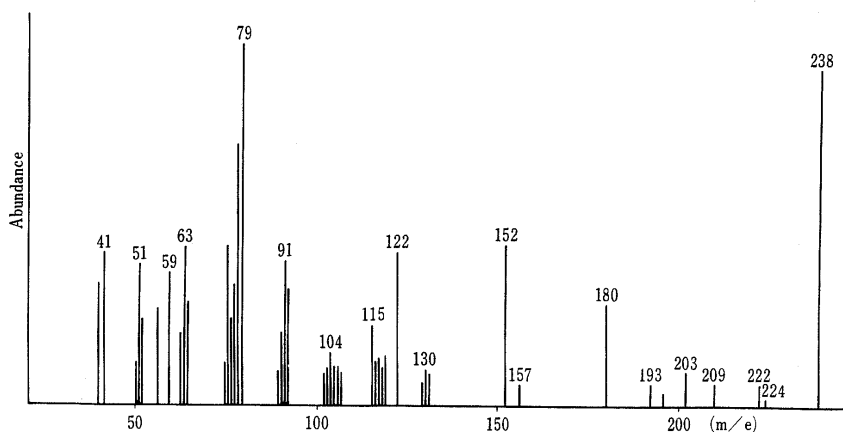


Fig. 3 Mass spectrum of propylaldehyde-2, 4DNPH

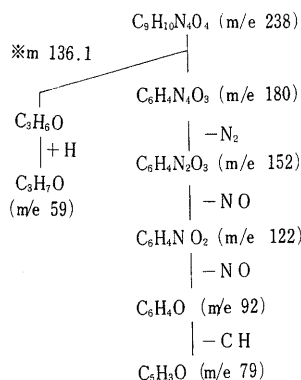


Fig.4 Scheme of fragmentation of propylaldehyde-2, 4-DNPH

=C-結合が開裂して生成したイオンであることは準安定イオンピーク m/e 136.1 の存在からも説明できる。

C₆までの直鎖飽和脂肪族アルデヒドではFig.5に示したようにいずれも類似したイオンピークを示しているが、C₄以上のものではδ位の水素転移による McLafferty 開裂イオン M⁺-42 が顕著に現われており、この開裂イオンからさらに脱水された安定なイオン M⁺-60 が特徴的である。^{18) 19) 20)} また、C=N 結合開裂によって生成したアルキルラジカルによるフラグメントピークが相当するアルデヒドの炭素数に対応して現われる。したがってこれらのフラグメントピークと2, 4-DNPH の分子イオンピークから相当する2, 4-DNPH を確認できる。

分枝脂肪族アルデヒドでは直鎖脂肪族アルデヒドの場合と類似したパターンを示すが分枝炭素での単純開裂による m/e 43 が顕著である。すなわち、Fig.6 に示した

ようにイソバレルアルデヒドの m/e 43 (C₃H₇) のフラグメントピークは基準ピーク m/e 206 (C₈H₆N₄O₃) の約 35%の強度比を示し、イソブチルアルデヒドでは m/e 43 の強度比が基準ピーク m/e 203 の約 80%となっている。このように分枝炭素でのフラグメントイオン強度比からイソ型化合物の存在を推定することができるものとする。イソバレルアルデヒドの2, 4-DNPH のマススペクトルは m/e 206 が基準ピークでありそのフラグメンテーションは精密質量分析によるエレメントマップから Fig.7 に示した経路を考えた。

m/e 250 は M⁺-O であり、これはさらに C₅H₁₀ を脱

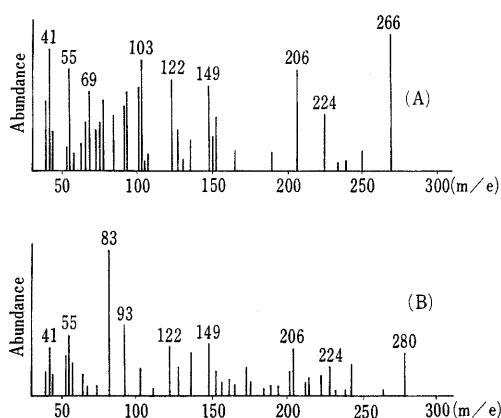


Fig.5 Mass spectra of valeraldehyde and capronaldehyde-2, 4-DNPHs

(A) : Valeraldehyde-2, 4-DNPH

(B) : Capronaldehyde-2, 4-DNPH

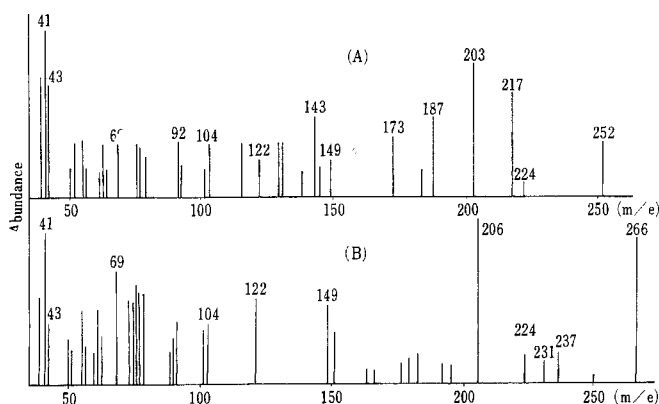


Fig.6 Mass spectra of branched aldehyde-2, 4-DNPHs

(A) : 2, 4-DNPH

(B) : Isovaleraldehyde-2, 4-DNPH

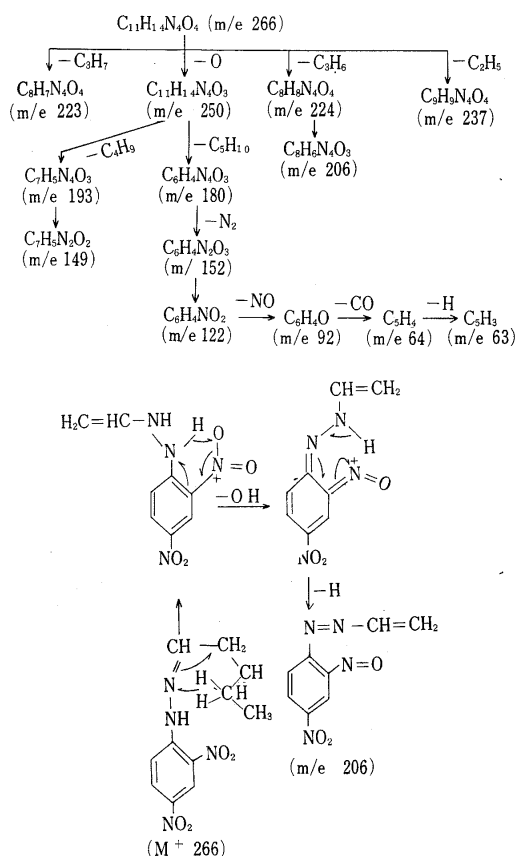


Fig.7 Scheme of fragmentation of isovaleraldehyde

離して安定なイオン $\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$ (m/e 180) を生じ、 N_2 , 2NO が脱離して $\text{C}_6\text{H}_4\text{O}$ (m/e 92) を生成するものと推定した。 m/e 206 は基準ピークであり、精密質量分析の結果は $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_3$ を支持している。このイオンは分子イオンから C_3H_7 が脱離した $\text{C}_8\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_4$ から OH 及び $\text{H}^\bullet$ が脱離して生じた安定なイオンと考えられ、この開裂は準安定イオン m/e 190.2 からも説明できる。

芳香族アルデヒド類の 2, 4-DNPH ではニトロ基を含む芳香環のフラグメンテーションのほか、に相当する芳香族アルデヒドの芳香環に由来するフラグメントピークが顕著に観察される。すなわち、フェニルアセトアルデヒドでは β 開裂によるトロピリウム・カチオン m/e 91 が基準ピークとなっており、このイオンから生成したシクロペンタジエニルイオン m/e 65 及び α 結合の開裂に対応したフェニル カチオン m/e 77、さらに m/e 51 などが芳香族化合物の特徴ピークとして観察される。置換

基の α 炭素と N の $\text{C}=\text{N}$ 結合がベンゼン環と共役している化合物では $\text{C}=\text{N}$ 結合の安定化のため β 位での開裂は弱く、むしろ γ 位での $\text{N}-\text{N}$ 結合の開裂が容易に起こる。このことはアニスアルデヒドの場合に m/e 134, o -バニリンの場合 m/e 150 のピークが顕著に観察されることから類推される (Fig. 8)。

Fig.9 に示したように、精密質量分析によると一位に置換基 OH をもつ o -バニリンでは OH が放出された m/e 315 が観察される。 m/e 152, m/e 153 はニトロベンゼンの脱酸素素によって生成した再配列イオン $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_3\text{O}^\bullet_2$ 及び $\text{C}_6\text{H}_7\text{N}_3\text{O}^\bullet_2$ と考えられるがその開裂様式は明らかでない。また m/e 149 は $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}_4\text{O}^\bullet$ であり、これは $\text{C}=\text{N}$ 結合の開裂によって生成したものであろう。このような芳香族化合物の特徴的な開裂ピークと 2, 4-

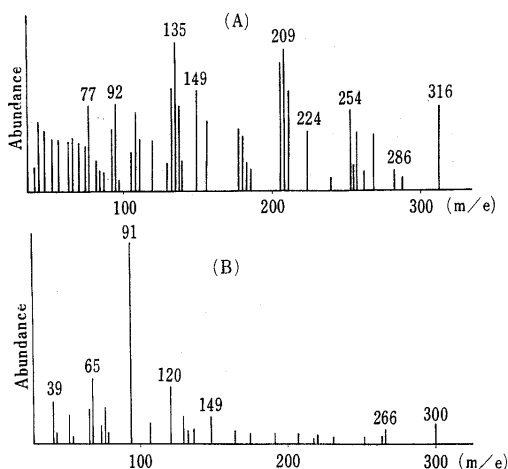


Fig.8 Mass spectra of 2, 4-DNPHs of aromatic aldehyde

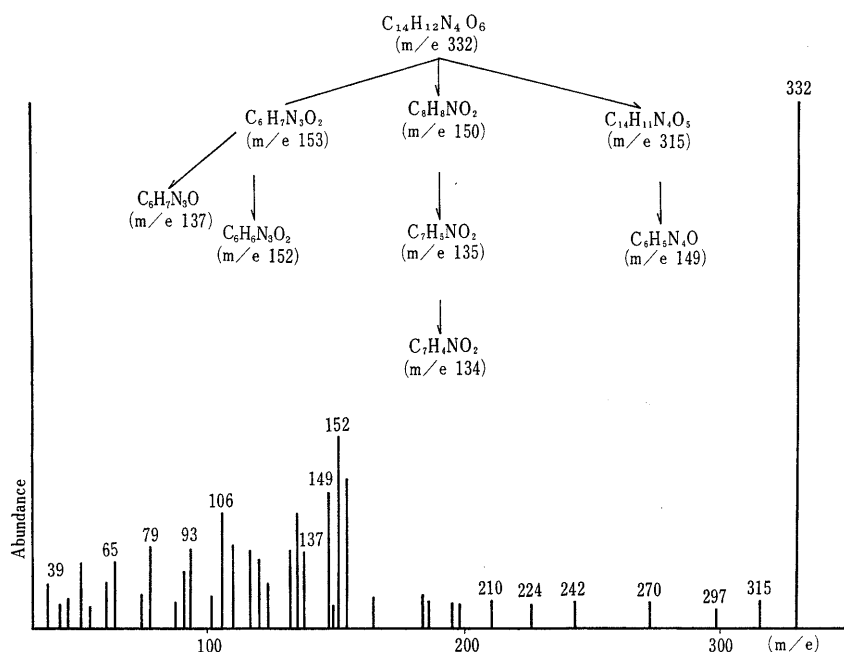
(A) : Anisaldehyde-2, 4-DNPH

(B) : Phenylacetaldehyde-2, 4-DNPH

DNPH の強い分子イオンピークから容易に対応する芳香族アルデヒドの確認ができる。

フランは安定な芳香環を形成しているため 2, 4-DNPH の場合も分子イオンピークが顕著に観察される。

すなわち、フルフラールでは m/e 276 の分子イオンが基準ピークとなっており、 m/e 95, m/e 97 が顕著であるこれらのイオンピークは $\text{N}-\text{N}$ 結合の開裂によって生じた再配列イオンでありメチルフルフリルケトンでも認められる。フラン環に置換基を有しないものではフラン環の $\text{C}-\text{O}$ 開裂によって生成するシクロプロペニル陽イオン m/e 39 及び m/e 29 が観察されるが、5-メチルフルフラールでは m/e 43 が認められるので置換基の決定ができ

Fig. 9 Mass spectrum of 2, 4-DNPH of *o*-vaniline

る。これらのマスペクトルはフラン化合物と共通したフラグメンテーションで説明できる (Fig. 10)。

5-ヒドロキシメチルフランでは異なった開裂をしている。すなわち、分子イオン m/e 306 は基準ピーク m/e 121 の約 30% の相対強度であり、分子イオンから脱水されて生成したと考えられるオキソニウム陽イオン m/e 228 が観察される。この脱水機構は準安定イオン m/e 271 の存在からも確認できる。また、 m/e 288 はジニトロベンゼンを放出して m/e 121 ($C_6H_5N_2O$) を生成する。この m/e 121 は基準ピークとなるが、これはフラン環と共役することにより安定化されているためと考える。 m/e 288 $\rightarrow$ m/e 121 の開裂は準安定イオン m/e 50.8 から説明できる。また、5-ヒドロキシメチルフランではホルミルラジカルを脱離して生成するプロペニル陽イオンの生成及び $R-c=O^+$ によるイオンピークが全く観察されない。Fig. 11 に5-ヒドロキシメチルフラン-2, 4-DNPH のマスペクトル及びエレメントマップによる開裂経路を示した。

フランアルデヒドについても分子イオン及びフラグメントイオンによって容易に確認することができる。

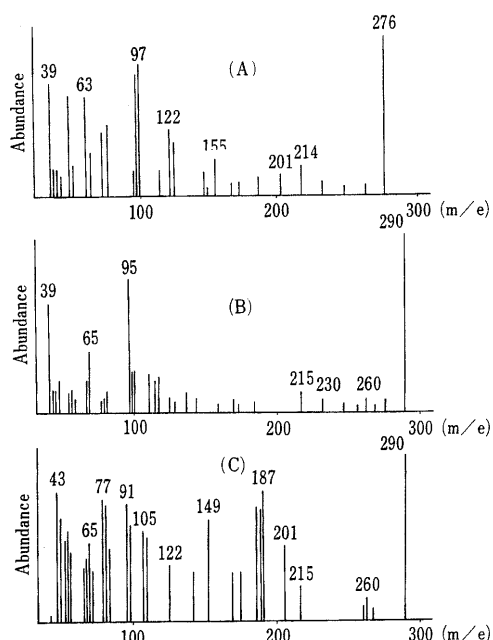


Fig. 10 Mass spectra of 2, 4-DNPHs of fufural derivatives

(A) : Furfural-2, 4-DNPH,

(B) : 2-Furfurylmethylketone-2, 4-DNPH,

(C) : 5-Methylfurfural-2, 4-DNPH

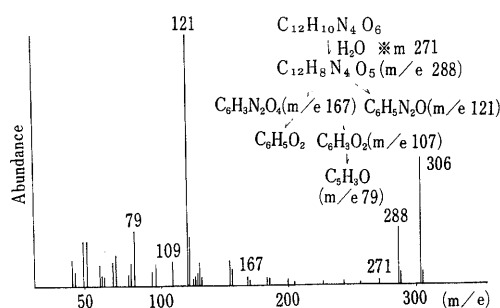


Fig.11 Mass spectrum of 5-hydroxy methyl-furfural-2, 4-DNPH

3・2 泥炭くん蒸麦芽の揮発性カルボニル化合物の分離確認

3・2・1 TLCによる分離

泥炭くん蒸麦芽を水蒸気蒸留し、留出液中及びヘッドスペースに含まれるカルボニル化合物を2・5の方法に従って別々に捕集した。ヘッドスペースの香気は2, 4-DNPH として捕集するとほとんど消失し、わずかに硫化物臭が残ることから水蒸気蒸留によって生成する

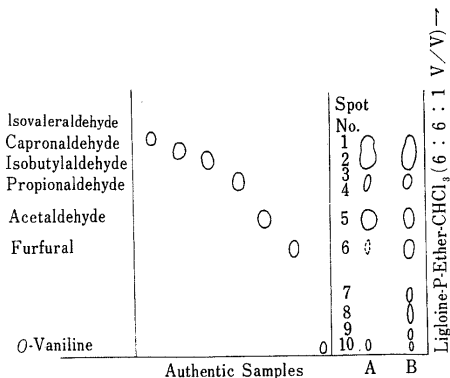


Fig.12 TLC chromatograms of 2, 4-DNPHs obtained from malt distillate

A : In head space fraction

B : In distillate fraction

ヘッドスペースの香気はカルボニル化合物が主要成分であることがわかる。この二つの画分の2, 4-DNPH をクロロホルムに溶解後 TLC で分離したクロマトグラム及びデンシトグラムは Fig.12 と Fig.13 に示した。

ヘッドスペースからは5個、留出液中から8個のスポットを検出し、スポット1及びスポット2が多量成分である。両画分の各スポットは共通した Rf 値を示すが、スポット4、スポット5及びスポット10はヘッドスペース画分では極めて微弱的なスポットを示すにすぎない。ス

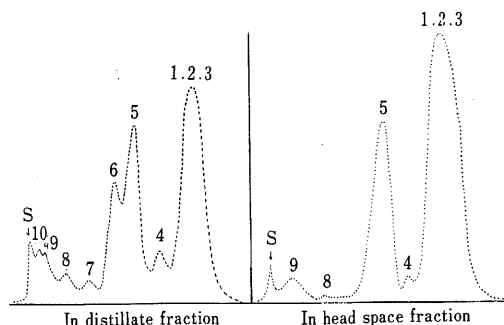


Fig.13 Densitograms of 2, 4-DNPHs obtained from malt distillate

ポット1, 2及び3はアルカリ処理により $\lambda_{\max}$ は深色移動する。スポット4の $\lambda_{\max}$ は 364nm で、アルカリ処理により 430nm にシフトし、フルフルールの2, 4-DNPH の挙動とよく類似している。スポット10はアルカリ処理で紫青色を呈することからジケトン類と考えられる。

TLC で分離したスポット1をかき取り、クロロホルムで抽出し、分取したものについて IRS を測定した。Fig.14 に示したように 2970cm^{-1} (νCH_3) が比較的顕著であり、 1200cm^{-1} 以下の吸収スペクトルはイソパレルアルデヒドの2, 4-DNPH の吸収スペクトルによく類似している。しかし、このマススペクトルは m/e 252, 266, 280 に分子イオンによるピークが観察されることから C_3 , C_4 , C_5 などのアルデヒドの2, 4-DNPH の混合物と考えられる。このように C_3 以上のアルデヒド類は、ここで用いた TLC 条件では完全に分離することはできなかった。

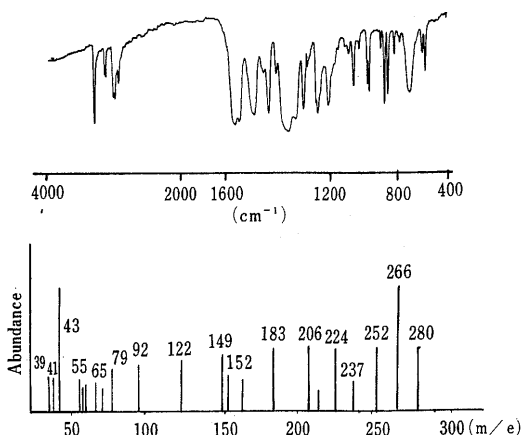


Fig.14 IR and Mass spectra of mixture of spot No. 1, 2, 3

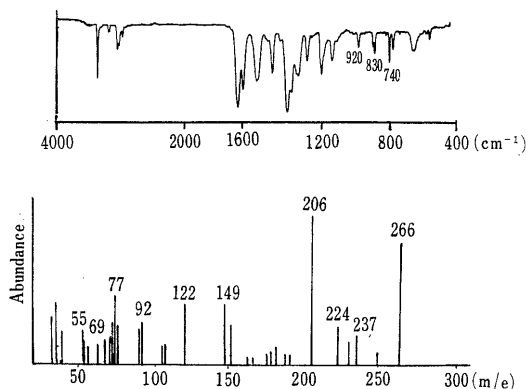


Fig. 15 IR and Mass spectra of fraction 1

3・2・2 LCによる分離

留出液から捕集した2, 4-DNPHを少量のクロロホルムに溶かし、内径2cm, カラム長70cmのシリカゲルカラムを用いクロロホルムを溶出剤として100mlずつ分取して分画した。

Fig.15 に示したように fraction 1 は 2950cm^{-1} に νCH_3 , 1380cm^{-1} に δCH_3 の吸収帯がみられ、 1000cm^{-1} 以下の吸収帯はイソバレルアルデヒドの2, 4-DNPHの吸収スペクトルによく類似している。また、 $m/e 266$ に分子イオンピークが観察されることは $\text{C}_5-2, 4\text{-DNPH}$ を示すものであり、 $m/e 223$, $m/e 43$ のピークが存在からイソバレルアルデヒドの2, 4-DNPHであると認めた。

Fraction 2 は 2920cm^{-1} の νCH_2 が νCH_3 の強度より強く、 1000cm^{-1} から 900cm^{-1} に4本の吸収帯、 700cm^{-1} から 600cm^{-1} に2本の吸収帯があり、これらの特徴的なピークは n -カブロンアルデヒドの2, 4-DNPH とよく一致している。また、 m/e も280に分子イオンピークが現われており、 $\text{N}=\text{C}$ 結合の開裂によって生ずる $m/e 83$ のイオンピークから対応するアルデヒドの炭素数は C_6 であり $m/e 3$ が極めて弱い強度しか示さないことは分枝炭素鎖を持っていないと考えられる。したがって、Fraction 2 は n -カブロンアルデヒドの2, 4-DNPH と確認した (Fig. 16)。

Fraction 3 の λ_{max} はクロロホルム溶液中で361nmであり、アルカリ溶液中で λ_{max} は420nmにシフトする。 1000cm^{-1} 以下の吸収帯はイソブチルアルデヒドの2, 4-DNPH とよく一致しており、分子イオン $m/e 252$ が基準ピークである。したがって対応するアルデヒドの炭素数は C_4 である。NMR スペクトルでは、TMS を内部標準として1.2ppm に二つの二重線があり、この二重線は非等価な二つの分枝メチルのプロトンシグナルと

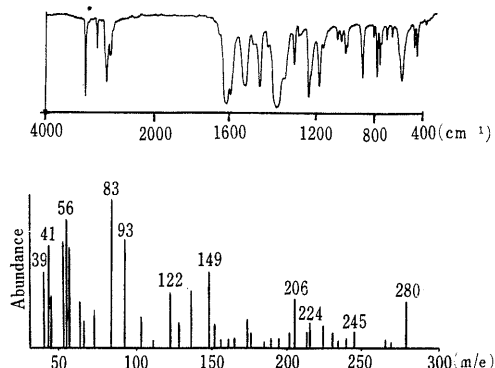


Fig.16 IR and Mass spectra of fraction 2

考えられる。2.7ppm の多重線は分枝炭素の $-\text{CH}$ プロトンであり 7.6ppm の二重結合をもつ炭素のメチンプロトンとカップリングしている (Jax 6cps)。これらの結果からこの画分はイソブチルアルデヒドの2, 4-DNPH であると確認した (Fig 17)。

Fraction 4 は分子イオンピーク $m/e 238$ から対応するアルデヒドの炭素数は C_3 であり、NMR スペクトルから1.3ppm のメチルプロトンの三重線、2.5ppm の多重線は CH_2 プロトンであり 7.5ppm のメチンプロトンの三重線からプロピルアルデヒドの2, 4-DNPH と考えて矛盾しない (Fig. 18)

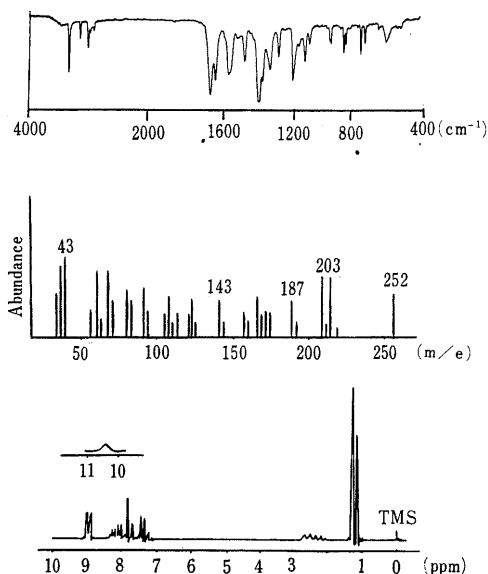


Fig. 17 IR, Mass and NMR spectra of fraction 3

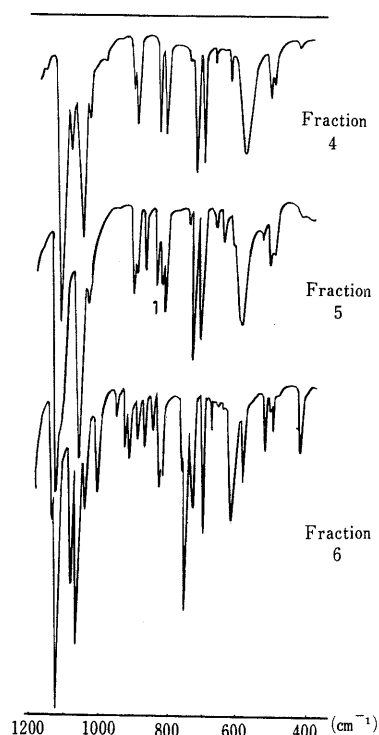


Fig. 18 IR spectra of fraction 4, 5, 6

Fraction 5はクロロホルム溶液中で 358nm に λ max があり、アルカリ溶液中で 420nm に λ max がシフトする。また、 850cm^{-1} にアセトアルデヒド-2, 4-DNPH のII型結晶構造に基因する吸収帯が現われており、指紋領域の吸収帯はアセトアルデヒドの2, 4-DNPH と一致しており、分子イオン m/e 224 及び NMR スペクトルで 2.2ppm にメチルプロトンの二重線と 7.6ppm にメチンプロトンの四重線が観察されることからこの画分はアセトアルデヒドであると同定した (Fig. 18)。

Fraction 6は 1100cm^{-1} から 800cm^{-1} の領域に特徴的な吸収帯があり、この吸収帯はフルフラールの2, 4-DNPH のものとよく一致しており、分子イオン m/e 276 のほか、 m/e 93, m/e 63, m/e 39 などの開裂イオンが顕著に観察されることからこの画分はフルフラールの2, 4-DNPH であると認めた (Fig. 18)。

Fraction 7は微量成分であり、クロロホルム溶液中で 385nm に極大吸収を示し、アルカリ処理によりこの極大吸収は 500nm まで深色移動することなどからこの画分はジアセチルの2, 4-DNPH と考える。

3・2・3 GC-Massによる分離同定

ガラス導入装置による質量分析は単離された化合物を

対象とするが、立松ら²¹⁾はアルカロイド類の混合物をガラス導入装置により直接質量分析し、混合物のマススペクトルから確認と定量分析を試みている。しかし、一般に多数の成分を色々な割合で含む試料のマススペクトルは意味のないものが多い。したがって、混合物ではTLC又はLCにより分取したものについてマススペクトルを測定している。しかし、分取による方法は分析に長時間を要すること、試料が多量に必要であり混合物の分離精度も十分でない。Halverson¹⁶⁾は2, 4-DNPH をフラッシング法によりガスクロマトグラフ中で再生したアルデヒドについて GC-Mass を直接測定し、そのマススペクトルから成分を同定する方法を試みているが GC-Mass の詳細については明らかにされていない。

著者は、揮発性カルボニル化合物の2, 4-DNPH が明瞭なマススペクトルを与えることからこれらの2, 4-DNPH を GC-Mass で分離確認する方法を検討した。

Soukup らが2, 4-DNPH の分離に用いた GC 用のカラム充填剤 SF96 は脂肪族アルデヒド類の分離に良好な結果を与えるが、液相の蒸気圧が比較的高いため GC-Mass の充填剤としてはバックグラウンドの影響が顕著に現われスペクトルの解析が困難となる。

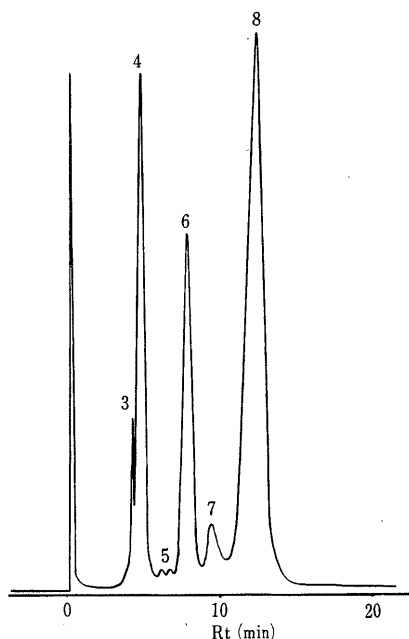


Fig. 19 Gas chromatogram of 2, 4-DNPH obtained from head space of malt distillate

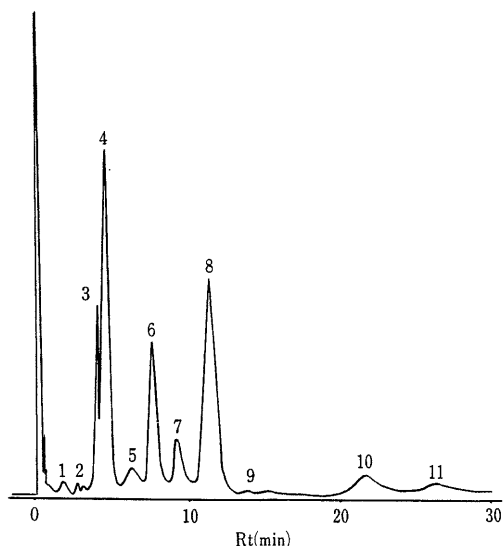
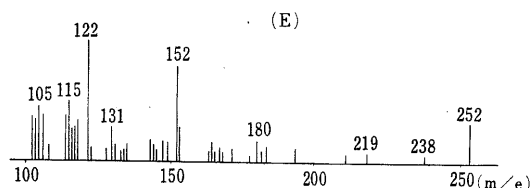
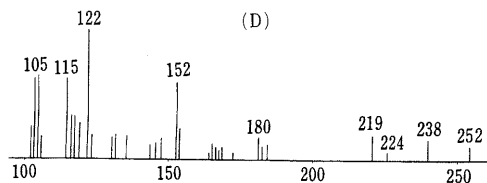
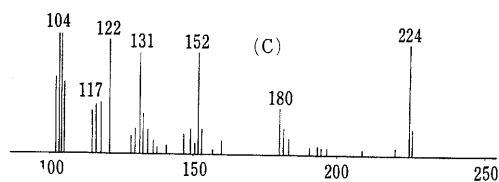
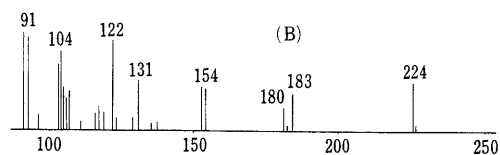
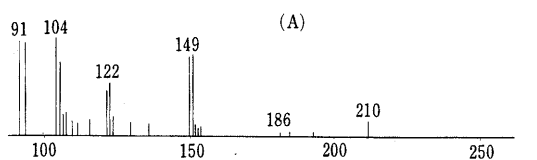


Fig. 20 Gaschromatogram of 2, 4-DNPH obtained from distillate of malt

一方、DEXSIL300GC, OV101, OV 1 など低濃度のシリコン系ポリマーをカラム充てん剤とした場合、揮発性カルボニル化合物の2, 4-DNPH の相互分離は共によく、SF96 の場合と変わらない分離能を示した。OV 1 (2%) を用いカラム温度 190°C, 注入口温度 300°C の条件で泥炭でくん蒸した麦芽から捕集した2, 4-DNPH をベンゼンに溶かし GC で分離した。Fig.19, 20 に示したようにヘッドスペース画分では7個のピークを検出し、その相対強度比はピーク8が53.0%で主成分をなしており、ピーク4は25.3%, ピーク6は19.1%である。これに対して、留出液中の2, 4-DNPH からは約12個のピークを検出するが、主成分はピーク4でありその相対強度比は23.3%となっている。またピーク8は22.7%, ピーク6は13.2%であり、高沸点領域にピーク10及びピーク11が検出され相対強度比はそれぞれ7.9%及び2.9%である。ヘッドスペースと留出液中の2, 4-DNPH のガスクロマトグラムはほぼ類似したパターンを示すが、ヘッドスペースからはピーク1及び2の微量成分は確認できなかった。

GG-Mass のイオンモニターによるクロマトグラムも GC の場合と全く同様なパターンを示す。これらの各ピークについて GC-Mass によりマススペクトルを測定した。すなわち、Fig.21 に示したように、ピーク1は m/e 210 に分子イオンによるピークが現われており

m/e 188, 149, 122 などのフラグメントピークは2, 4-DNPH を示唆している。分子イオン 210 (M^+) はホルムアルデヒドに相当する2, 4-DNPH であり、この成分は TLC 及び LC 分離では検出できなかったものである。ピーク3とピーク4は同じ分子イオン 224 (M^+) を与え、フラグメントイオンも類似しているがピーク3では m/e 152 と 153 の強度比がほぼ等しいのに対してピーク4では m/e 152 が約4倍のイオン強度となっている。分子イオンから相当するアルデヒドはアセトアルデヒドであるがピーク3とピーク4は構造異性体と考えられる。



(continued on next page)

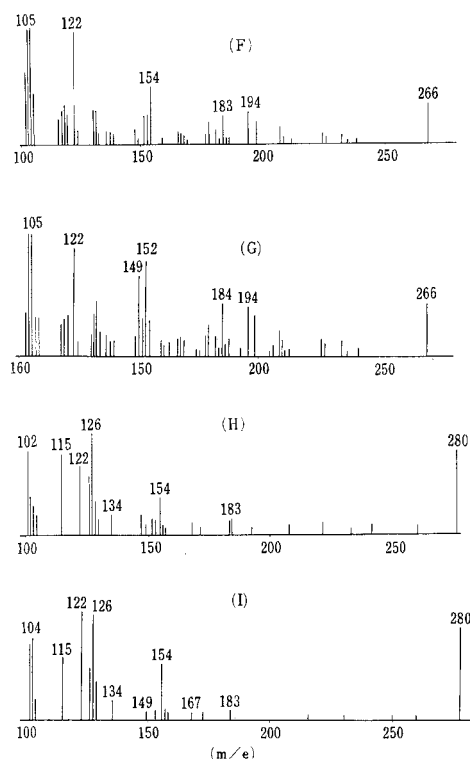


Fig.21 GC-Mass spectra of 2,4-DNPHs obtained from distillate of malt

(A)Peak 1, (B)Peak 3, (C)Peak 4,

(D)Peak 5, (E)Peak 6, (F)Peak 7,

(G)Peak 8, (H)Peak10, (I)Peak11,

Peak numbers are the same as cited in Fig.20

Conditions of measurement of GC-Mass :

Instrument : JASCO-Finnigan 3100 GC

EM・HV : 2000V, Beam current : 200 μ V

Column : Glass(1 m), OV-1 (3%)packing

Column temperature : 190°C

Injection temperature : 230°C

Carrier gas : He

ピーク 5 とピーク 6 も共に分子イオン 252 (M^+) を与えるが、GC の保持時間との関係からピーク 5 はイソブチルアルデヒドであり、ピーク 6 は n-ブチルアルデヒドと同定した。また、ピーク 5 及び 6 には m/e 238 がいずれも観察されるが、これは C_3 アルデヒドの混在することによるものである。したがって、ピーク 5 及び 6 はそれぞれイソブチルアルデヒド、プロピルアルデヒド及びブチルアルデヒドであり、イソブチルアルデヒドが

Table 1 Carbonyl compounds in distillate of malt dried over peat fire

Carbonyl compounds detected	Method for identification
Capronaldehyde	GC-Mass, GC, TLC, UV.
Isovaleraldehyde	GC-Mass, GC, IR, TLC, UV, NMR.
n-Valeraldehyde	GC-Mass, GC.
Isobutylaldehyde	GC-Mass, GC, IR, NMR, UV
n-Butylaldehyde	GC-Mass, GC.
Propionaldehyde	GC-Mass, GC, IR, NMR, TLC, UV,
Acetaldehyde	GC-Mass, GC, IR, NMR, TLC, UV.
Formaldehyde	GC-Mass,
Furfural	IR, TLC, UV.

主成分である。ピーク 7 及び 8 の分子イオン 266 (M^+) は相当するアルデヒドの炭素数は C_5 であり、GC の保持時間からピーク 7 はイソバレルアルデヒドであり、ピーク 8 はバレルアルデヒドと確認した。ピーク 10 とピーク 11 はヘッドスペースからは検出されないが、共に 280 (M^+) に分子イオンが観察されることから C_6 のアルデヒドと認められる。

泥炭でくん蒸した麦芽の水蒸気蒸留によって生成する揮発性カルボニル化合物はイソバレルアルデヒド、イソブチルアルデヒド及びアセトアルデヒドが主成分であり、これらの成分はビール用原料麦芽との間に相違がないことから泥炭の熱分解生成物に由来するものではなく、また、麦芽のエーテル・メタノール抽出物からは 2, 4-DNPH としてほとんど捕集できなかったことから、これらの揮発性カルボニル化合物は水蒸気蒸留によって二次的に生成したものと考えている。泥炭でくん蒸した麦芽の水蒸気蒸留物から分離確認した揮発性カルボニル化合物は Table 1 に示した。

4. 要 約

揮発性カルボニル化合物を 2, 4-DNPH として捕集し、これを Mass 及び GC-Mass により分離確認する方法について検討した。これらのカルボニル化合物の 2, 4-DNPH は、いずれも明瞭に分子イオンピークを示し、脂肪族アルデヒドの $C_2 \sim C_5$ では分子イオンが基準ピークとなっており、 C_4 以上では McLafferty 転移の γ 開裂によるイオンピーク $M-42$ 及びこのイオンから脱水された $M-60$ のピークが特徴的である。ニトロベンゼンによる特徴ピークは顕著でないが N を含む開裂イオンは 2, 4-DNPH としてのアルデヒド類の確認を容易にしている。分枝脂肪族アルデヒドも直鎖のものと類似した開裂パターンを示すが、分枝炭素での単純開裂によ

るイオンピークが観察されるので両者を区別する手がかりになる。芳香族及びフラン系カルボニル化合物は分子イオンのほか芳香環、フラン環による特徴的なピークが観察される。

GC-Mass による 2, 4-DNPH の直接分析に関する報告はこれまでないが、著者は OVI (2%) をカラム充てん剤として GC-Mass により脂肪族アルデヒドの 2, 4-DNPH を分離確認することができた。GC-Mass により測定したマススペクトルは直接ガラス導入装置による固体のマススペクトルと全く同一のスペクトルが得られ、2, 4-DNPH としての分子イオンを示すことから GC により分離検出される 2, 4-DN

PH は充てんカラム内で分解することなしに検出されることを明らかにすることができた。

これらの方法を泥炭でくん蒸した麦芽の水蒸気蒸留によって生成する揮発性カルボニル化合物の分離同定に利用し、formaldehyde, acetaldehyde, propylaldehyde, n-butylaldehyde, isobutylaldehyde, n-valeraldehyde, isovaleraldehyde, capronaldehyde 及び furfural を確認した。

終りに本実験に種々協力いただいた大野分析官及び加藤分析官に深謝します。

(本報文の一部は日本農芸化学会西日本支部大会(昭和 45 年 10 月)で発表した)。

文 献

- 1) L. Wiselblatt, F. E. Kohn : *Cereal Chem.*, **37**, 55, (1960).
- 2) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助 : 農化, **43**, 217, (1969).
- 3) R. H. Walter, I. S. Fagerson : *J. Food Sci.* **33**, 294, (1968).
- 4) D. J. Bryce, C. T. Greenwood : *Die Stärke*, **15**, 285 (1963).
- 5) B. S. Miller, J. A. Johnson, R. J. Robinson : *Cereal Chem.*, **38**, 507 (1961).
- 6) Y. Linko, J. A. Johnson, B. S. Miller : *Cereal Chem.*, **39**, 468 (1962).
- 7) H. NG, D. J. Reed, J. W. Pence : *Cereal Chem.*, **37**, 638 (1960).
- 8) J. W. Ralls : *Anal., Chem.*, **32**, 1047 (1960).
- 9) R. L. Stephens, A. P. Tezler : *Anal. Chem.*, **32**, 1047 (1960).
- 10) 山西貞, 竹井瑤子, 小林彰夫, 農化, **41**, 526 (1960).
- 11) R. J. Soukup, R. J. Scarpellino, E. Danielczik : *Anal. Chem.*, **36**, 2255 (1964).
- 12) 柴崎一雄, 岩渕せつ子 : 食品工誌, **17**, 193 (1970).
- 13) 清水康夫, 松任茂樹, 伊東保之, 岡田郁之助 : 農化, **43**, 211 (1969).
- 14) 清水康夫, 松任茂樹, 水沼保之, 岡田郁之助 : 食品工誌, **17**, 385 (1970).
- 15) H. Kallio, R. R. Linko, J. Kaitaranta : *J. Chromatogr.*, **65**, 355 (1972).
- 16) H. Halverson : *J. Chromatogr.*, **66**, 35 (1972).
- 17) J. H. Beynon, R. A. Saunders, A. E. Williams : "The mass spectra of organic molecules," Elsevier Publishing Co. (1968).
- 18) D. Goldsmith, C. Djerassi : *J. Org. Chem.*, **31**, 3661 (1966).
- 19) R. J. C. Kleipool, J. TH. Heins : *Nature*, **203**, 1280 (1964).
- 20) C. Djerassi, S. D. Sample : *Nature*, **208**, 1314 (1965).
- 21) 立松晃, 後藤俊夫 : 薬誌, **85**, 152 (1965).

Studies on Aromatic Compounds in Peated Malt (2)**Identification of Volatile Carbonyl Compounds Trapped as 2, 4-DNPH by GC-Mass**

Mitsuo DEKI

Central Customs Laboratory, Ministry of Finance, 531, Iwase, Matsudo-shi, Chiba-ken, Japan

Qualitative analysis was accomplished by high-resolution mass spectrometry of authentic carbonyl compounds which were converted to 2,4-dinitrophenylhydrazone(2,4-DNPH).

All compounds of 2,4-DNPH can be easily read from the peak with the highest mass in the spectra. With the 2,4-DNPH of C₂ to C₅ aliphatic aldehyde the parent peak is the base peak. 2,4-DNPH of aliphatic aldehyde (above C₂) shows an intense peak at $M^+ - 42$ corresponding to McLafferty rearrangement and a peak corresponding to $M^+ - (42 + H_2O)$ which has probably the great stability of resulting ion. It is not found as a significant feature of the spectrum corresponding to the cleavage of nitrobenzene.

The mass spectra of 2,4-DNPH of aromatic and furan compounds also do exhibit the parent peak and the peak corresponding to the original compounds.

2,4-DNPH of aliphatic aldehydes were injected to direct mass spectrometer combined with gaschromatography with a column packed with OV1 (2%).

2,4-DNPH of these compounds were detected without decomposition.

2,4-DNPH of volatile carbonyl compounds obtained from vapour distillate of malt dried over a peat fire were successively subjected to TLC, LC, GC and GC-Mass. The following carbonyl compounds were identified; formaldehyde, acetaldehyde, propylaldehyde, n-butylaldehyde, isobutylaldehyde, n-valeraldehyde, isovaleraldehyde, capronaldehyde and furfural.

—Received sept.30, 1972—