

ノート

ホップの揮発性成分の分析(1)カルボニル成分の2,4-DNPHのGC-MSによる確認

加藤 時 信, 出来 三 男*

1. 諸 言

植物の粉末またはエキスを輸入される商品は、それらの起源植物の種類及び調製の有無によって関税率表の分類を異にする。税関分析に当っては、これらの商品に含まれる特徴的な成分の種類と量などを確認して通常の鑑別が行われている。

著者らは、輸入農水産品の鑑別手段の一つとして、揮発性カルボニル化合物を2,4-ジニトロフェニルヒドラジン(2,4-DNP)と反応させ、カルボニル化合物を2,4-ジニトロフェニルヒドラゾン誘導体(2,4-DNPH)として直接ガスクロマトグラフ直結質量分析計(GC-MS)による分離同定法を検討してきた¹⁻⁵⁾。

ホップの成分については、これまでに、精油⁶⁻⁹⁾及び苦味成分⁸⁻¹⁰⁾を中心に数多くの報告が行われているが、揮発性の高いヘッドスペースの成分についての報告は見当たらない。

本報では、ホップのヘッドスペースのカルボニル成分を2,4-DNPHとして捕集し、直接GC-MSによる分離同定を行った結果について報告する。

2. 実験方法

2・1 試料

実験に使用した試料は、西独産ホップペレット(ビール醸造用)であり、これを、乳ばちで軽く粉碎して用いた。

2・2 カルボニル成分の捕集

試料約200gを三つ口フラスコに取り、窒素ガスを流しながら水蒸気蒸留して、留出する揮発性物質のうち、凝縮しないヘッドスペースの物質を2,4-DNPの2規定塩酸飽和溶液に導き、カルボニル成分を2,4-DNPHとして捕集した。この2,4-DNPHは、2規定塩酸水溶液、次いで水を用いて洗浄後、約70℃で真空乾燥した。

2・3 TLCの条件

薄層プレートは、厚さ0.25mmのシリカゲルを用い、リグロイン+クロロホルム(1+1, V/V)を展開溶媒として二重展開により分離した。

2・4 GCの条件

装置: Shimadzu GC-5APF, カラム: Silicone OV-101, 5%, Chromosorb W AW DMCS, 80~100メッシュ, 3mmφ×4m, ガラスカラム, カラム温度: 170~300℃, 5℃/min 昇温, キャリヤーガス: ヘリウム 60ml/min, 注入口温度: 300℃, 検知器: FID.

2・5 GC-MSの条件

装置: Shimadzu-LKB-9000, GC-Maspac 300, イオン化電圧: 70eV, イオン電流: 60μA, 加速電圧: 3.5kV, イオン源温度: 290℃。

GC-MSにおけるGCの条件は; カラム: Silicone OV-101, 5%, Chromosorb W AW DMCS, 80~100メッシュ, 3mmφ×3m, ガラスカラム, キャリヤーガス: ヘリウム 20ml/min, カラム温度: 150~250℃, 5℃/min 昇温, 注入口温度: 280℃で行った。

3. 結果と考察

3・1 TLCによる分離

ヘッドスペースのカルボニル成分の2,4-DNPHをTLCにより分離した結果はFig.1に示した。

spot No.1~6 は黄色~黄かっ色に呈色しており, spot No.7~11 はかっ色~赤かっ色を呈している。この薄層板に0.5規定水酸化カリウムのエチルアルコール溶液を噴霧したときの呈色の変化を見ると, spot No.1~6 では赤かっ色に, spot No.7~11 では紫色~青紫色に変色する。脂肪酸アルデヒドの2,4-DNPHはアルカリ処理により赤かっ色に変色するこから spot No.1~6 は脂肪酸のアルデヒドと考えられる。一方, アルカリ処理により青紫色に呈色する spot No.7~11 は,

* 大蔵省関税中央分析所 千葉県松戸市岩瀬 531

ジカルボニル化合物と推定される¹³⁾。

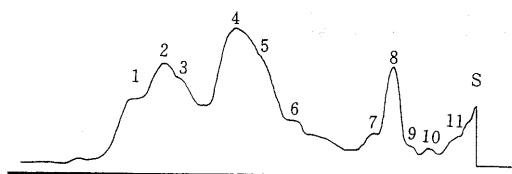


Fig. 1 TLC densitogram of 2, 4-DNPHs obtained from head space of hop

3・2 GC による分離

ヘッドスペースの 2, 4-DNPH をクロロホルムに溶解し, GC によって分離すると, Fig.2 に示したように多数のピークが検出される。

TLC で分離した各スポットをかき取り, クロロホルム抽出して得た各画分を, それぞれ GC により分離すると, Table1 に示したように, spot No.1~6 の画分ではそれぞれ特定の 2, 4-DNPH が濃縮されたクロマトパターンを示しているが, 一方, spot No.7~11 の画

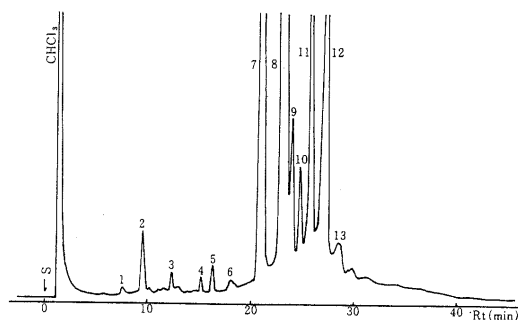


Fig. 2 Gas chromatogram of 2, 4-DNPHs obtained from head space of hop

分のクロマトパターンは相互に類似している(Fig.3)。このことは, spot No.7~11 の TLC による画分がテーリングしているために相互に混在しているのか, 或いは, GC の操作において, 2, 4-DNPH が熱分解したためと考えられる。

3・3 GC-MS による分離同定

ヘッドスペースのカルボニル成分の 2, 4-DNPH を直

Table 1 Components contained in each fraction scraed up from TLC plate

TLC fraction No. *	G C peak No. **												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1		◎					○	○	○	○	○	○	○
2	○					△		△	○	△	◎	◎	○
3	◎					△		○	◎	◎	◎	○	△
4	△							◎					
5	△							○	◎				
6	○							◎	◎				
7	○		○	○			△						
8			△	○	○	○							
9				○	○	△							
10				○	△								
11				○									

* TLC fraction numbers are same as cited in Fig.1

** GC Peak numbers are same as cited in Fig.2

◎ : Large peak, ○ : medium peak, △ : small peak,

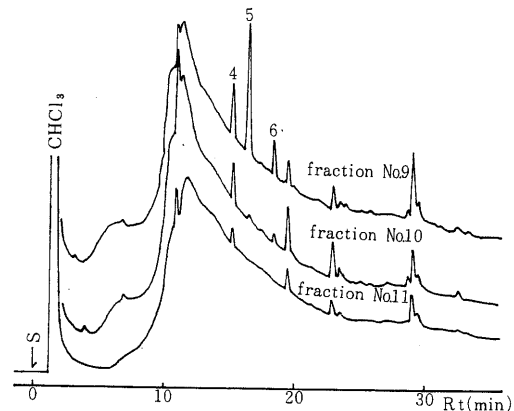


Fig. 3 Gas chromatograms of fraction No.9, 10 and 11

接 GC-MS によって分離同定を行った。

Fig.2 に示したガスクロマトグラムの peak No.と, それぞれの peak No.に対応する質量スペクトルの主なピーク及び化合物名を Table 2 に示した。

peak No.7 の質量スペクトルは, $m/e224(M^+)$ に強い分子イオンピークが現われており, $m/e180(M^+-C_2H_4O)$, $m/e152(180-N_2)$, $m/e122(152-NO)$ など, 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

Table 2 GC-MS data of 2, 4-DNPH of carbonyl compounds in head space of hop

Peak No. *	Compounds (2, 4-DNPH)	Fragment ions (m/e) and their relative intensity (%)
7	Acetaldehyde	M ⁺ 224 (64), 183 (2), 153 (3), 122 (30), 91 (28), 79 (100), 63 (52)
8	Propylaldehyde	M ⁺ 238 (100), 152 (29), 122 (32), 91 (32), 79 (77), 59 (71), 56 (88), 41 (71)
9	Isobutylaldehyde	M ⁺ 252 (100), 217 (14), 203 (4), 152 (68), 122 (77), 79 (99), 78 (87), 43 (75)
10a	Butenal	M ⁺ 250 (58)
b	n-butylaldehyde	M ⁺ 252 (12)
11	Isovaleraldehyde	M ⁺ 266 (98), 206 (20), 149 (30), 122 (44), 79 (54), 75 (40), 55 (45), 43 (85), 41 (100)
12	Isohexanal	M ⁺ 280 (75), 251 (7), 245 (8), 206 (8), 149 (25), 122 (15), 93 (11), 83 (23), 43 (99)
13	n-hexanal	M ⁺ 280 (45), 206 (72), 149 (59), 122 (32), 93 (10), 91 (24), 83 (85), 55 (100), 43 (44)

* Peak numbers are same as cited in Fig.2.

ン核を含むイオンなどの特徴的なピークから acetaldehyde 2, 4-DNPH と同定した。

peak No.8 は, Fig.2 に示したガスクロマトグラムの各ピーク中で最も大きいピーク強度を有する。この質量スペクトルは, m/e238(M⁺)に強い分子イオンピークが現われるほか, 標準の n-propylaldehyde - 2, 4-DNPH の質量スペクトル³⁾によく一致している。

peak No.9 は, m/e252(M⁺)に強い分子イオンピークが現われており, m/e43 [-CH(CH₃)₂]の開裂イオンピークが顕著であることなどから isobutylaldehyde - 2, 4-DNPH と同定した。

peak No.10 は, 標準の n-butylaldehyde - 2, 4-DNPH(M⁺=252)の GC 保持時間一致するが, m/e=252 のほかに, m/e250 にも分子イオンピークと思われるピー

クが強く現われており, n-butylaldehyde と butenal の 2, 4-DNPH が混在しているものと推定した。

peak No.11 の質量スペクトルは Fig.4 に示した。これは, m/e266(M⁺)に分子イオンピークが現われ, Fig.5 に示した開裂様式を満足することから isovaleraldehyde - 2, 4-DNPH と同定した。

peak No.12 及び 13 の分子イオンピークは, いずれも m/e280(M⁺)であり, それぞれ isohexanal と n-hexanal の 2, 4-DNPH であると同定した。

なお, peak No.2 は m/e204 に分子イオンピークが現われており, これは, カルボニル成分の 2, 4-DNPH を沈殿として捕集する際に包含されてきたセスキテルペン炭化水素と考えられる。

また, その他の微小ピークについては, 質量スペクト

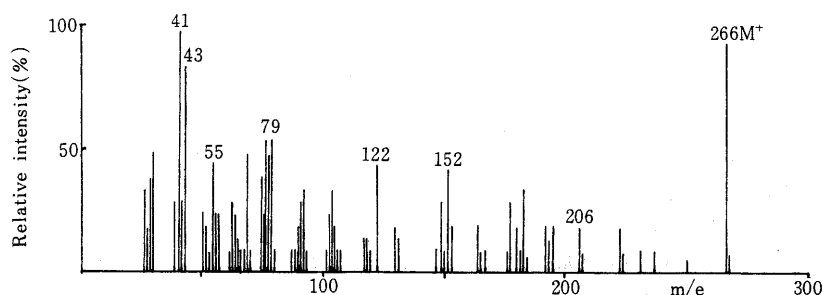


Fig.4 Mass spectrum of peak, No.11

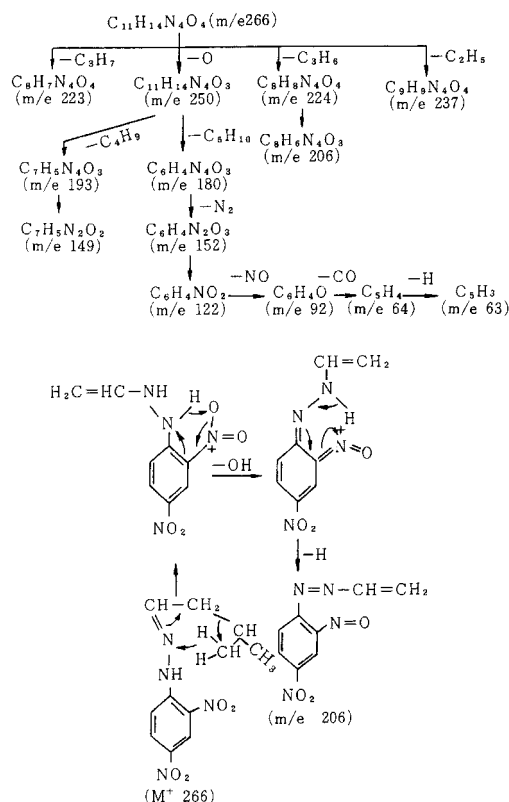


Fig.5 Scheme of fragmentation of isovaleraldehyde

ルによる同定は困難であった, 以上の結果, ホップのヘッドスペース成分として8種類の脂肪酸アルデヒドを確認し, いくつかのジケトン類の存在が薄層クロマトグラフィーにより推定された。

これらのうち, isovaleraldehyde については, 納谷ら⁶⁾がホップオイルから確認しているが, その他の C_6 以下の脂肪酸アルデヒドの存在については, これまで明らかにされていない成分である。

4. ま と め

ホップのヘッドスペースのカルボニル成分を, 2, 4-DNPH として捕集し, この2, 4-DNPH を直接 GC-MS により分離同定した。

この方法により, $C_2 \sim C_6$ の脂肪酸アルデヒドの8種類の存在が確認された (Table2 参照)。これらのうち, 7種類はこれまでホップの成分として報告されていないものである。

ジカルボニル化合物に由来する bis-2, 4-DNPH 類は, 今回行った条件では直接 GC-MS による分離同定は困難であった。これらのカルボニル化合物については, 今後検討を要する。

文 献

- 1) 出来三男, 加藤時信: 本誌, No.11, 1(1971).
- 2) 出来三男: *ibid.*, No.13, 13(1973).
- 3) 出来三男: 香料, No.108, 15(1974).
- 4) M. Deki and M. Yoshimura: *Chem. Pharm. Bull.*, **22**, 1754(1974).
- 5) M. Deki and M. Yoshimura: *ibid.*, **23**, 1374(1975).
- 6) 納谷洋子, 小竹無二雄: 日化誌, **88**, 1302(1967). **89**, 1113(1968). **91**, 276(1970).
- 7) Y. Naya and M. Kotake: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **43**, 2956, 3594(1970). **44**, 3116(1971). **45**, 2887(1972).
- 8) S. T. Likens and G. B. Nickerson: *J. Agr. Food Chem.*, **15**, 525(1967).
- 9) R. G. Buttery and L. C. Ling: *ibid.*, **15**, 531(1967).

- 10) M. Verzele, E. Vanluchene and J. V. Dyck : *Anal. Chem.* , **45**, 1549(1973).
- 11) R. J. Molyneux and Y. Wong : *J. Agr. Food Chem.* , **21**, 531(1973).
- 12) S. R. Palamand and J. M. Aldenhoff : *ibid.* , **21**, 535(1973).
- 13) 横塚保, 浅尾保夫 : 農化, **35**, 837(1961).

Analysis of Volatile Components of Hop(1)

Identification of Carbonyl Compound Collected as 2, 4-DNPH by GC-MS

Tokinobu KATO, Mitsuo DEKI

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

—Received Sep. 13, 1975—