

ガスクロマトグラフ直結質量分析計による 輸入ナツメグ油の分析**

大野幸雄*, 出来三男*

ガスクロマトグラフを直結した質量分析計によって、輸入ナツメグ油成分の確認を行なった。著者らは他成分に妨害されない正確な質量スペクトルを得るため、カラムクロマトグラフ法を併用して、精油成分をその極性によって分画し、GC—Mass 法を適用する方法を検討した。

本法によって、精油の特徴的成分の確認とともに、新たに文献に記載のない微量のシネオール、カンファーの存在およびナツメグ油中の偽和物、ベンジルエーテルを確認した。

1. 緒 言

植物精油の分析にガスクロマトグラフ法をはじめとする機器的手段の利用は迅速、簡便さの点で極めて有効で数多く応用されている。とくに、ガスクロマトグラフ法は測定条件の選定が容易であり、精油の性状に応じた設定が可能であるため精油の分析には不可欠のものである。

しかし、精油成分を確認する場合に単に各ピークの保持時間から判定を下すことは危険を併なう場合がある。それは精油成分を完全に分離するカラム充填剤が見出されていないことで、これは換言すれば天然精油の構成成分が余りにも複雑であることを示すものである。

また、標準品の入手が困難なことも単純にクロマトグラムの比較を困難にする場合がある。とくに得られたクロマトグラム上に標準精油のクロマトグラムと異なるピークを認める場合には、それが精油の起源、採油法などを異にするための自然発生的のものか、あるいは人為的に添加されたものであるかを明らかにするため異常ピークの解明が必要となる。このような場合に、特異ピークについて何らかの知見が与えられない限りその判定にはかなりの困難を伴うのが普通である。

近年、質量分析計とくにガスクロマトグラフを直結

した質量分析計（以下、GC—Mass と略称する）の利用によって、正常なスペクトルが得られる限りとくに標準品を必要とせず精油成分の確認がかなり微量までできるようになった。しかし、植物精油えの分析的応用例はまだ少なく、^{1), 2), 3), 4)} 適用上にも問題があるように考えられる。

著者らは GC—Mass への精油の直接導入による質量スペクトルの検討を試みたが少量成分の究明には有効でなかったため、カラムクロマトグラフ法による成分の分別、濃縮化を併用する方法を採用した。本法は輸入ナツメグ油の分析においてその特徴的成分の確認あるいは共存する偽和物の検出などに有効であった。

2. 実験方法および結果

2・1 試料および測定装置

実験に用いた精油は米国産のナツメグ油で、Table 1 に示す性状を有し、その赤外吸収スペクトルおよびガスクロマトグラムは Fig. 1, Fig. 2 のとおりである。また試料は Fig. 3 に示す薄層クロマトグラムから R_f = 0.5 のスポットを除き成分的には両者の間に著しい相違は認められない。

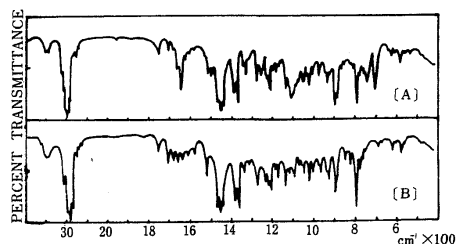


Fig. 1 Infrared Spectra of Nutmeg Oils.
(Lig. film)

* 大蔵省関税中央分析所 千葉県松戸市岩瀬 531

** 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1報）とする。

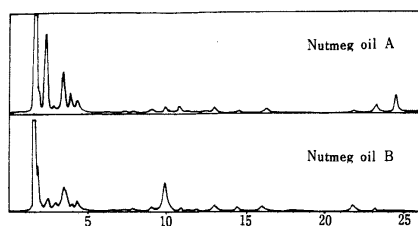


Fig. 2 Gas chromatograms of Nutmeg Oils.

Column: PEG-20M 5%. 2m

Carrier: He 7.5ml/min

Temp: 80~230°C Program 6°C/min

FID: Sens 10⁸ Att. 1/8

Inj. Temp: 250°C

Table 1. Physical and Chemical Properties of Imported Nutmeg Oils

Essential oil	Sp. Gr. (15°C)	n_D^{20}	S. V.	A. V.
Nutmeg oil(A)	0.8548	1.4793	16.0	4.8
Nutmeg oil(B)	0.8432	1.4690	2.8	4.4

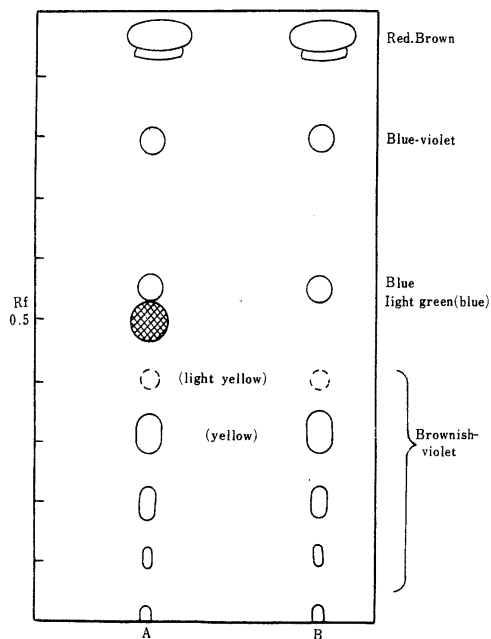


Fig. 3-(a) Thin-layer chromatograms of Nutmeg Oil

Solvent: n-Hexane: Chloroform=3:7

Developer: Conc H₂SO₄

Colours in () Shows in the long Wave ultraviolet light

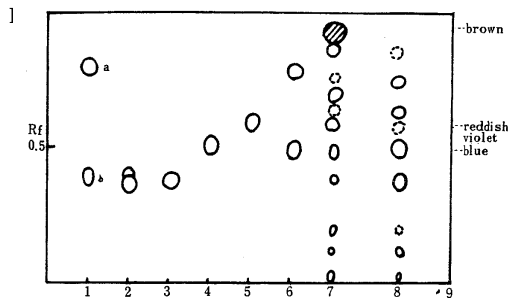


Fig. 3-(b) Thin-Layer Chromatograms of Nutmeg Oil

1. a: Terpenyl Acetate (blue Violet)
b: α -Terpineol (blue)
2. Geraniol+Nerol (greenish brown)
3. Borneol
4. Linalool (blue)
5. Eugenol (Redish Violet)
6. Linalyl acetate (blue)
7. Nutmeg oil(A) } de-hydrocarbons oil
8. Nutmeg oil(B) }

Solvent: n-Hexane: Chloroform=3:7(developed twice)

Developer: Conc H₂SO₄+Anisic aldehyde (5%)

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（自動昇温付）と日立 RMU-6E 型質量分析計をキャリア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⁵⁾によって直結した GC—Mass 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 μ A, イオン源温度 220 である。また、赤外吸収スペクトル、ガスクロマトグラムの測定は日立 EPI-G₂型赤外分光光度計、柳本 GCG-5DH 型ガスクロマトグラフによった。

2・2 カラムクロマト法による精油成分の分別

ガスクロマトグラフから連続的にイオン化室に導かれる各成分の明瞭な質量スペクトルを得るために、微量成分の濃縮およびガスクロマトグラフによる分離を効果的にする必要から Fig. 4 に示すように主として共存成分の極性によって試料油を分別し、フラクションにより GC-Mass の分離条件を選定した。

こゝで、n—ヘキサン溶出につづいて n—ヘキサン

：クロロホルム = 1 : 1 の混合溶剤を用いたのはテルペン炭化水素のうちミルセンや p-キュメンなどは n-ヘキサンでは完全に溶出しきれないためと、サフロールやシネオールなどの含酸素化合物の一部が炭化水素につづいて溶出される傾向にあるので、テルペンアルコール類との分離および濃縮を目的としたものである。各フラクションの薄層クロマトグラムを Fig. 5 に示す。

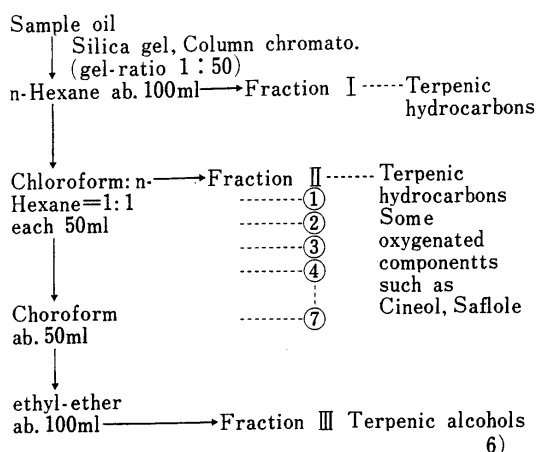


Fig 4. Separation diagrams of essential oils

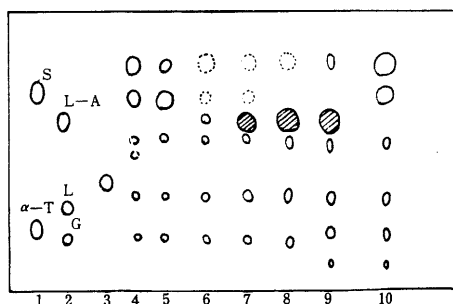


Fig 5. Thin-Layer chromatograms of each fractions

1. Safrrole(s) + α-Terpineol (α-T)
2. Geraniol(G) + Linalylacetate(L-A) + Linalool(L)
3. Eugenol
4. Fraction II (NO1) Sample A
5. " " (NO2) " "
6. " " (NO3) " "
7. " " (NO4) " "
8. " " (NO5) " "
9. " " (NO6) " "
10. Fraction I (NO1) Sample B

Solvent: { n-Hexane:chloroform=1:1 ... 100ml }
Ethyl acetate 3ml }
Developer: Conc H₂SO₄ + Amisic aldehyde

2・3 GC—Mass による質量スペクトルの測定

2・2 で得られたフラクションのうち、フラクション - , , について質量スペクトルの測定を行った。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歧しクロマトグラムを画かせ、各ピークの頂点で質量スペクトルを連続的に測定した。二次電子増倍検出器の感度は通常の条件を用い、ピークの大小によって E.M 電圧を適当に加減した。

2・4 各フラクションの質量スペクトル

フラクション - のクロマトグラムおよび各ピークより得られた質量スペクトルを Fig. 6 に示す。

モノテルペン炭化水素を含むフラクション - は、APG - L カラムを用いて比較的低温から昇温させれば他成分による干渉の少ない質量スペクトルを得ることができる。このフラクションに入る炭化水素は、Table 2 に示すように種々のベースピークを有し、さらに特徴的なフラグメントイオンを与えるので構造と対比してこれらの炭化水素の同定は容易である。

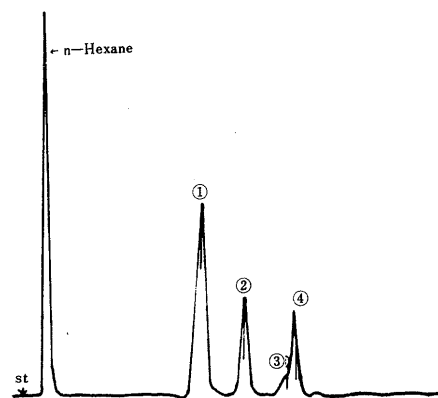


Fig 6 - (a). Gas chromatogram of Fraction - I

(Nutmeg oil A)

Column: APG - L 5% 2m

Column Temp: 70 ° ~ 150 (5 /min)

Carrier Gas: He 0.25kgs/cm²

Inj. Temp: 200

Aux. temp: 180

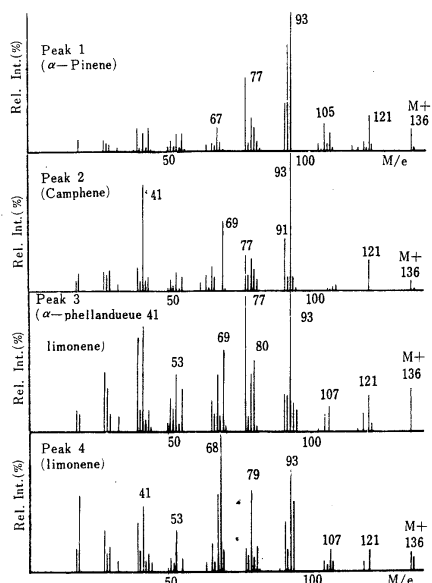


Fig 6-(b) Mass Spectra of terpenic hydrocarbons in Fraction I

Table 2. Characteristic base peaks of terpenic hydrocarbons

Base Peak (M/e)	Hydrocarbons
41	Myrcene
55	Pinane
68	d-Limonene
69	β-Fenchene
81	Menthene- 8, Menthene- 9, Fenchane
93	α - Pinene, β - Pinene, Camphene, γ-Terpinene
95	α - Phellandrene, Sabinene
119	Menthene- 1, - 2, - 3, Camphane
121	p - Cymene, Allo-ocimene

ナツメグ油(A)から Fig. 6 に示すように、α - ピネン、カンフェン、d - リモネンを検出した。このうち p - キュメン、d - リモネンの一部およびミルセンはこの実験条件では次のフラクション - に残ることが判明した。

フラクション - (1)および - (4)のGC—Massによる結果を Fig. 7 に示す。

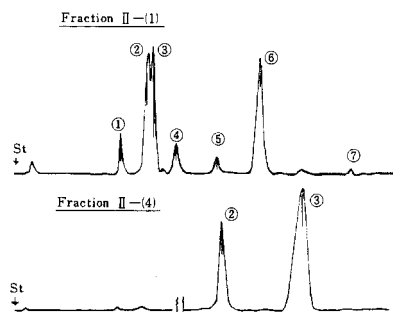


Fig 7. Gas chromatograms of Fraction-II (Nutmeg oil A)
Column : APG-L 5% 2m
Column Temp: 70°~200°C (5°C/min)
Carrier Gas : He 0.3kgs/cm²
Inj. Temp : 200°C
Aux Temp : 180°C

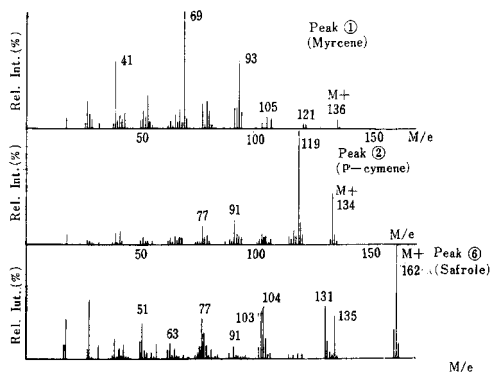


Fig 7-(a) Mass Spectra of typical Components in Fraction II-(1)

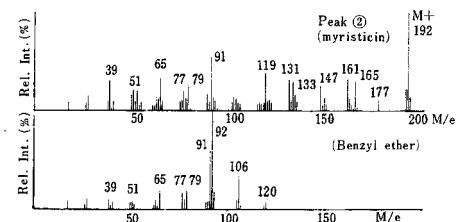


Fig 7-(b). Mass Spectra of typical Components in Fraction II-(4)

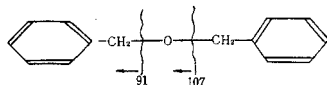
ピーク はミルセンでこの質量スペクトルでは、ベースピーク M/e69 のほかに M/e93, M/e41 が主なフラグメントイオンである。この M/e69 は二つの二重結合に対しアリル位に相当する結合が切れて生じたもので、これより M/e41 の生成は準安定イオンの存在(69⁺ → 41⁺ + 28)から明瞭である。

ピーク は p- キュメンとリモネンのピークが一部重なっているがその他の成分の干渉がないのでその同定は可能である。ピーク とピーク は質量スペクトルからはモノテルペン炭化水素とは認め難く検討中である。

ピーク はサフロールで、イソプロペニル基およびメチレンジオキシ基を分子内に含むために特徴的なスペクトルを示す。すなわち、親イオンおよび M-1 イオンの強度が大きく、プロペニル基の二重結合について α 位の開裂による M/e135, メチレンジオキシ基の開環にともなう脱ホルミルでの M/e131, さらにこれから脱 CO による M/e103 のフラグメントイオンが顕著である。

フラクション - (4) から得られたピーク はミリスティシンで、サフロールと共にナツメグ油の特徴的成分である。この質量スペクトルでは強度の大きい M⁺ および M-1 イオンとメトキシ基による M/e177 (M-CH₃)/M/e161 (M-CH₃O) M/e165 (M-CH=CH₂) と M-45 のメチレンジオキシ基の開環, 脱ホルミルによる M/e147 の生成さらにこの脱 CO による M/e119 の特徴的なイオンが出現する。その他, M/e91, 65, 50, 51, 39 などはベンゼン核の開裂に基因するフラグメントイオンでサフロールの場合と同様である。

ピーク はジベンジルエーテルで開裂機構は明らかでないがジフェニルエーテルの場合⁷⁾と異なる開裂が起っている。このものの質量スペクトルはイオン化電圧を 30e・Volt にしても親イオンの生成は認められない。また試料の全ガラス導入系による測定においても全く同様のスペクトルを与える。しかもこれらスペクトルの再現性は極めて良いことから、ジベンジルエーテルは開裂を次のように考える。



すなわち, M/e107, M/e91 はエーテル結合の切断によるフラグメントイオンで、ベースピーク M/e92 は 91 への再配列によるものと推定される。M/e65, 51, 39 などはベンゼン核によるものである。

また、このフラクション・(6)の赤外吸収スペクトルは芳香族モノ置換体の特徴的吸収およびエーテル結合を明瞭に示し、標準スペクトルにほぼ一致することからジベンジルエーテルであることが判明した。

ジベンジルエーテルは天然精油には存在せず⁸⁾、一般に調香用に使われることからナツメグ油(A)に人為的に加えたことは明らかである。

フラクション - には主としてテルペンアルコール

類が溶出される。テルペンアルコール類はこの精油中には少なく他成分による干渉のために試料油の直接導入では良好なスペクトルは得られなかった。しかし、Fig. 8, Fig. 9 に示すように、このフラクションの測定には極性カラムを用い昇温法で良好な分離を示すので明瞭な質量スペクトルを得ることができた。

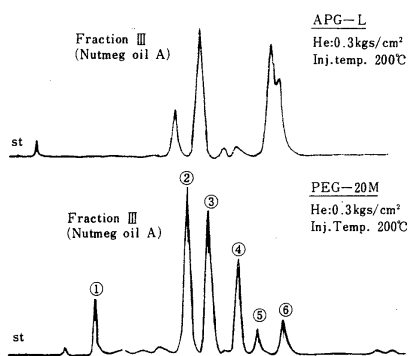


Fig 8-(a). Comparisons of gas chromatograms detected by Total Ionic Monitor

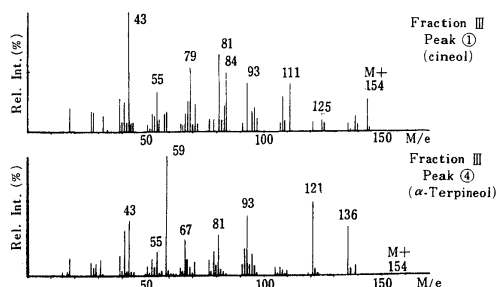


Fig 8-(b). Mass Spectra of Components in Fraction III (Nutmeg oil A))

フラクション - の GC-Mass から試料 A, B 共にシネオールを含むことが判明した。これは文献には記載のない成分で⁹⁾通常ガスクロマトグラフ法では d- リモネンあるいはジペンテンのピークと重なる傾向にあるので確認し難いものである¹⁰⁾。したがってガスクロマトグラフの分離条件を考慮しない限り試料精油の直接導入ではテルペン炭化水素成分の検索に障害になる。

さらに、試料 B からは新たにカンファーを検出した。これらは同条件で測定した標準品の質量スペクトルに一致した。

このフラクションに含まれるリナロールの質量スペクトルでは親イオン (M/e154) の強度が弱く、含有程度によっては検知できない場合があり、高質量部に出

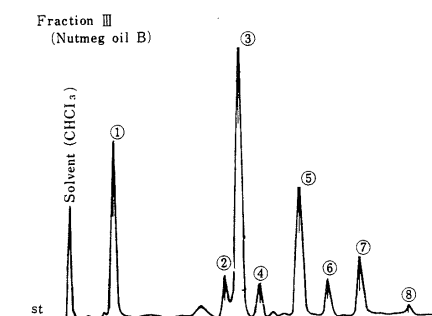


Fig 9-(a). Gas Chromatogram of Fraction III (Nutmeg oil (B))

Column: PEG-20M
 Column Temp: 70~220°C (4°C/min)
 Carrier Gas: He. 0.3kgs/cm²
 Inj. Temp: 200°C
 Aux. Temp: 200°C
 ① Cineol ⑤ α-Terpineol
 ② Camphor ⑥ ?
 ③ Linalool ⑦ Geraniol
 ④ ? ⑧ ?

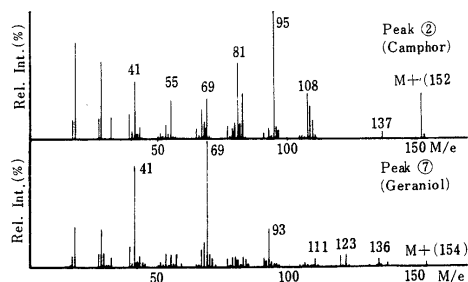


Fig 9-(b). Mass Spectra of Components in Fraction III (Nutmeg oil (B))

現する M - 18, M - 33 のピークからテルペン炭化水素と誤認され易い。M/e93 のベースピークは従来脱水による β - オシメン型の安定構造をとるためと考えられているが¹¹⁾, 測定条件によっては M/e71 がベースピークになる場合がある。開裂の詳細については検討中である。

以上のごとく, GC—Mass 法による輸入ナツメグ油成分の試験結果を Table 3 に示す。

Table 3. Components of imported nutmeg oil by GC—Mass

Fraction	Nutmeg Oil (A)	Nutmeg Oil (B)
n-Hexane	α-Phellandrene α-Pinene. Camphene p-cymene. d-Limonene	α-Pinene. d-Limonene α-Phellandrene p-Cymene
n-Hexane: Chloroform 1 : 1	Myrcene. p-Cymene Safrole. Myristicine Benzyl ether *	P-Cymene. Myrcene Safrole. Myristicine
Ether	Linalool. Geraniol α-Terpineol Cineol *, l-Menthol (?)	linalool. α-Terpineol Geraniol Cineol * Camphor * l-Menthol (?)

* not described in literatures

3. 結 論

ガスクロマトグラフを直結した質量分析計を用いてナツメグ油の成分検索を行ない、2, 3 の成分については検討中のものもあるが、文献に記載の成分を確認することができた。カラムクロマトグラフ法の併用によって通常のガスクロマトグラフ法では確認し難い少量のシネオール、カンファールの存在および偽和物としてのジベンジルエーテルの存在を確認した。

精油成分の検索に GC—Mass 法を適用する場合に、一種のカラムで測定したクロマトグラムで見かけは一のピークを示していても類似または保持時間の近接した成分の重なりのために正確な質量スペクトルが得ら

れない場合もある。とくに微量成分を確認する場合には、試料の注入量を増すよりもカラムクロマトグラフ法などであらかじめ各成分グループに分け、最適カラム、分離条件で測定することが得られた質量スペクトルの解釈をより容易し、複雑な天然精油の分析においては効果的であることが判明した。本法をさらにベルガモット油、カシヤ油の成分分析に適用した結果も、カラムクロマトグラフ法併用の効果が認められた。

おわりに、本研究にあたり御助言をいただいた当所入江分析官に感謝いたします。

文 献

- 1) W . H . McFadden , R . Teranishi
J . chromatog : **18** , 10(1966)
- 2) W . H . McFadden , R . Teranishi
J . Food Science : **28** , 541(1963)
" **29** , 790(1964)
- 3) W . H . McFadden ,
J . Food science : **31** , 591(1966)
- 4) 正田芳郎 香料 No.**89** 37(1967)
- 5) K . Biemann Anal . chem : **36** , 1135(1964)
- 6) 田中誠之 , 大野幸雄
分析化学 : **14** , 711(1964)
- 7) 北原喜男 , 佐々木慎一 , 村田一郎
マススペクトルの見方 P74 共立(1964)
- 8) 木村清三 香料化学 P50 共立(1960)
- 9) E . Guenther
The essential oils vol 5 P59(1952)
- 10) 大野幸雄 , 川端欣五
関税中央分析所報 : **1** , 87(1965)
- 11) 佐々木慎一 , 黒川 忠
化学 : **21** , 158(1966)

Analysjs of Imported Nutmeg oil by GC—MASS

Yukio OHNO
Mitsuo DEKI
The Central Customs Laloratory
531 Iwase Matsudo city

Nutmeg oils were examined by using Mass-Spectrometer combined with gas-chromatograph. Owing to get exact explanations in which it is not interacted with other components , we used also column chromatographic technique as pre-treatment of essential oils.

Each fraction which separated by its porarities was tested by Mass-Spectrometer combined with gas-chromatograph.

New experimental results be obtained which would provide to identify of its constituents; and also new component, which is, cineol and comphor, which was not described about those, was found in imported nutmeg oils.

—Received Feb 10 1969—