

ノート

アルジトールアセテートのガスクロマトグラフィー 及び GC-MS による分析

出 来 三 男*, 袴 田 泰 雄**

1 緒 言

食品に含まれる糖質の分離確認法として、ペーパークロマトグラフィー、薄層クロマトグラフィー及びカラムクロマトグラフィーなどは、操作が簡便であること、再現性のよい結果が得られることから、現在でも単糖類の分析法として常用されている。しかし、これらの方法は、比較的多量の試料を必要とすることと、分析に時間を要し、呈色反応にそれほど特異性がないため、多種類の糖質が混合しているものでは満足できる結果が得られない。一方、ガスクロマトグラフィーは、微量の揮発性化合物の分離分析法として常用されている。しかし、糖質のように揮発性のない化合物は、直接ガスクロマトグラフィーで分析することは困難であり、これを揮発性誘導体にかえる必要がある。

ガスクロマトグラフィーのための糖質誘導体として、メチル化、アセチル化及びトリメチルシリル (TMS と略称) 化物が用いられている。なかでも TMS エーテルによる分離に関しては、多くの研究がなされている¹⁾。しかし、糖質の TMS 化においては、アノマーの生成が顕著であり、一つの糖質で 2～3 個の異性体の生成が認められており、これらの糖アノマーは、ガスクロマトグラフィーにおいて保持時間を異にするので、数個のピークとして現われる。従って、混合糖質の TMS 化物では多数のピークが出現し、定性、定量分析を複雑なものとしている。このような糖質アノマーはアセチル化でも起こる。糖質のアセチル化によるアノマー生成は α 体又は β 体であるが、糖質をあらかじめ還元して糖アルコールとしたのち、アセチル化すると、アノマー生成を考慮する必要がないため、生体組織の多糖質の構造研究にこの方法が応用されている^{2) 3)}。

ここでは、数種の単糖をアルジトールアセテート誘導体としたのち、ガスクロマトグラフィーにより分離する

条件について検討し、さらにアルジトールアセテートの GC-MS による確認についても考察した。

2 実験方法

2・1 アルジトールアセテートの調製

糖質 10mg を水 2.5ml に溶かし、これに NaBH_4 10mg を加えてよく混合し、50℃の湯浴中に置き、ときどき振とうしながら 1 時間還元したのち冷却し、これにカチオン交換樹脂 (アンバーライト IR120 (H^+)) 20ml を加えて振とうし、ろ過する。ろ液は凍結乾燥後、メタノール 20ml を加えて減圧濃縮し、さらにメタノール 20ml を加えて減圧濃縮したのち、真空乾燥する。これに無水酢酸：ピリジン (1 : 1 ν) 混液 5ml を加え、90℃で 2 時間加熱し、冷却後水を加えて減圧濃縮し、アルジトールアセテートをクロロホルムに溶かし、これをガスクロマトグラフィーの試料とした。

2・2 ガスクロマトグラフィーの条件

装置：島津 GC-5AP, カラム充填剤：SE30 (3%), OV-101 (2%), PEG-20m (3%), カラム長：3mm×2m, カラム温度：150～250℃, 5℃/min, キャリヤーガス：ヘリウム 60ml/min, 注入温度：280℃, 検知器：FID。

2・3 GC-MS の条件

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

GC-MS における GC の条件は、カラム充填剤として OV-1 (3%) を用い、カラム長さ：3m×3mm, キャリヤーガス：ヘリウム 30ml/min, カラム温度：150～250℃5℃/min 昇温、注入温度 280℃で行った。

3 結果及び考察

* 関税中央分析所 千葉県松戸市岩瀬 531

** 横浜税関分析室 横浜市中区海岸通り 1-1

3・1 アルジトールアセテートのGCによる分離

Sawardeker ら²⁾ はアルドースを室温で3時間還元することによりアルジトールを得ている。しかし、ガスクロマトグラフィーに使用する微量糖質混合物の還元は、それほど長時間を必要としない。著者らは、数種のアルドペントース、アルドヘキソース及び二糖類について NaBH_4 による還元条件を検討した。その結果、これらの糖質の糖アルコールへの還元は、 50°C 、10時間で充分であることを知った。室温 (25°C) では、還元速度がやや遅く、100mgの糖質の還元には2時間が必要とした。この反応液から過剰の NaBH_4 を除去するために酢酸による中和又はカチオン交換樹脂による処理とメタノール処理が行われているが、ほう酸の除去が容易であることから、カチオン交換樹脂による方法が簡便である。しかし、カチオン交換樹脂を添加するとき発熱するので、反応液を十分に冷却しながら添加する必要がある。

Table 1 にアルジトールアセテートの相対保持時間を示した。SE-30、カラム温度 200°C の場合、リボースは約1分程度でピークが現われる。OV-100 では約5分で現われるが、極性の強い PEG-20m では約12分でピークが出現する。いずれの充てん剤でもペントース、ヘキソース及び二糖類との分離は良好であった。ペントース相互の分離性状は、SE-30、OV-101 及び PEG-20M で類似しており、ともによい分離能を示した。マンノース、グルコース、ガラクトースの相互分離は、この条件では充分でない。とくにマンノースとグルコースの分離はできなかった。

マルトースとラクトースは OV-101 又は SE-30 により分離できるが、保持時間が長く、OV-101、 280°C の条件で、ラクトースは18分、マルトースは17分でピークが現われる。SE-30 では、カラム温度 250°C で、ラクト

ースが16分、マルトースが18分で現われる。PEG-20M では、カラム温度を 250°C にしてもピークが検出できなかった。

Table 1 Relative retention time of alditol acetate

Alditol acetate	OV-101(2%)	SE-30 (3%)	PEG-20M (3%)
	Column temp. 200°C		Column temp. 250°C
Ribitol	1.0	1.0	1.0
Arabitol	1.3	1.3	1.2
Xylitol	1.4	1.4	1.3
Mannitol	3.2	3.0	2.5
Glucitol	3.3	3.0	2.7
Galactitol	3.6	3.3	2.8
	Column temp. 280°C		
Lactitol	41.0	29.7	—
Maltitol	43.5	30.3	—

PEG-20M によるアルジトールアセテートのガスクロマトグラムを Fig.1 に示した。

3・2 アルジトールアセテートのGC-MS

Heyns ら^{4) 5)} はヘキソースペンタアセテートの開裂機構について検討し、Bieman ら^{6) 7)}、Budzikiewicz ら⁸⁾ もヘキソースパーアセテートのマスマスペクトルを測定して、その開裂ルートを示している。しかし、アルジトールアセテートのマスマスペクトルについては、ほとんど報告がみられない。

著者らはアルジトールアセテートを GC-MS により測定し、そのマスマスペクトルから開裂様式について考察した。Fig.2 にリビトール、アラビトール、キシリトールアセテートのマスマスペクトルを示した。Fig.2 に示し

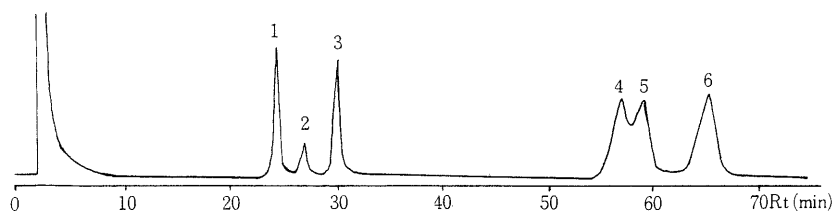


Fig.1 Gas chromatogram of alditol acetate

GC conditions: column PEG-20M(3%), $4\text{ m} \times 3\text{ mm}$,
Column temp.: 250°C , He 60 ml/min , FID.

Peak 1 : Ribitol acetate, Peak 2 : Arabitol acetate,
Peak 3 : Xylitol acetate, Peak 4 : Mannitol acetate,
Peak 5 : Glucitol acetate, Peak 6 : Galactitol acetate.

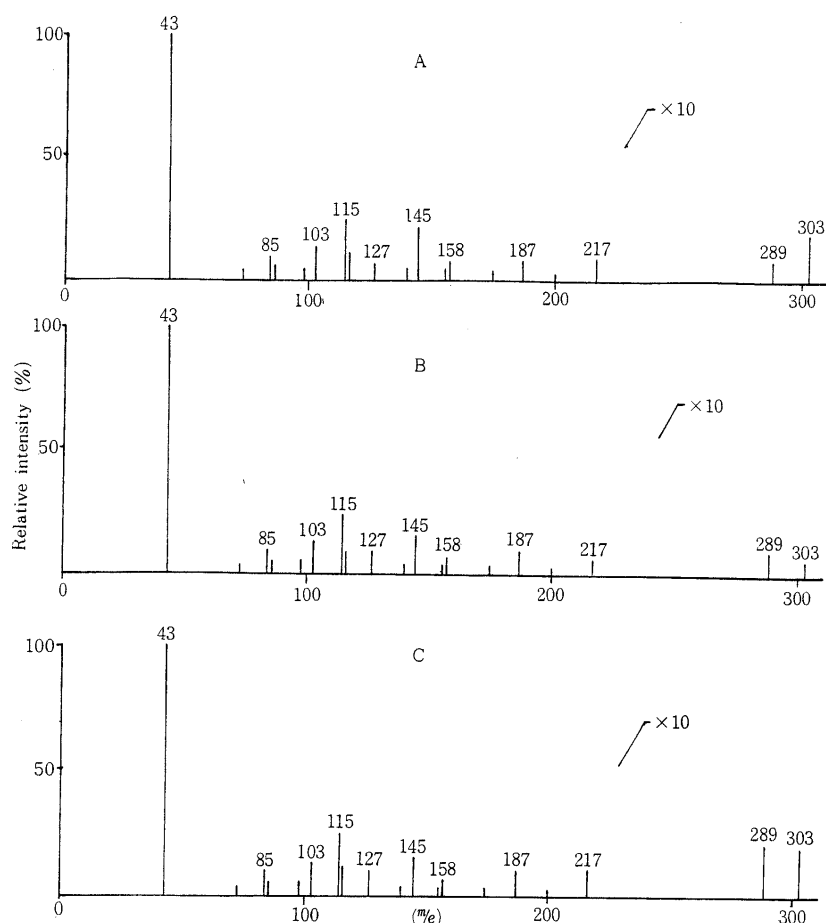


Fig.2 Mass spectra of alditol acetate

A: Ribitol acetate(M^+362)
 B: Arabitol acetate(M^+362)
 C: Xylitol acetate(M^+362)

たように、これらのアルジトールアセテートは、 m/e 43 が基準ピークとなっており、アセテートに起因する開裂イオンとして、 m/e 43 のアセチリウムイオン ($CH_3C \equiv O^+$) のほかに、 m/e 103 (ジアセチルオキシニウムイオン) 及び m/e 145 (トリアセチルオキシニウムイオン) が観察される。これらのアセチルオキシニウムイオンは Bieman ら⁶⁾ によって、ヘキソースパーアセテートから生成することが認められている。リビトール、アラビトール及びキシリトールアセテートは、いずれも m/e 303 に最高質量ピークを示し、分子イオンピークは観察されない。この m/e 303 は、分子イオンからアセトキシ基 (CH_3CO_2)⁺ が脱離したものに相当する： m/e 289 は分子イオンから $-CH_2OCOCH_3$

が脱離したイオンと考えられる。ヘキソースパーアセテートの開裂様式として、分子イオンから脱アセトキシした m/e 331 を出発とする m/e 169 $\rightarrow$ m/e 109 の開裂と、 m/e 242 を出発とする m/e 200 $\rightarrow$ m/e 140 $\rightarrow$ m/e 98 の開裂経路が Bieman ら⁷⁾ により示されているが、アルジトールアセテートの場合は、このような脱酢酸、脱ケテンの開裂はそれほど顕著でなく、分子イオンから $-CH_2OCOCH_3$ が脱離した m/e 289 を出発とする開裂が主流をなしているものと考えられる。その開裂ルートを Fig.3 のように考えた。

マンニトール、グルチトール及びガラクトールアセテートもよく類似したマススペクトルを示しており、 $M^+ - 59$ (m/e 375) のピークが最高質量数のピークとして観察

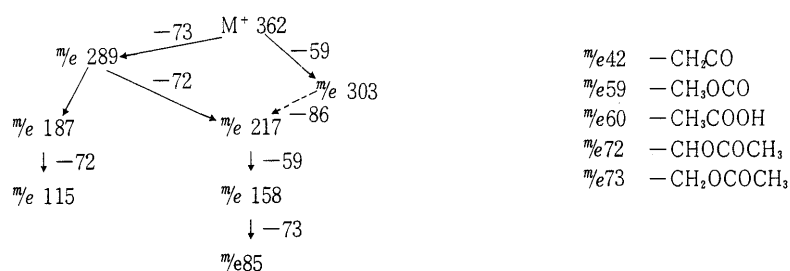


Fig.3 Fragmentation route of pentitol acetate

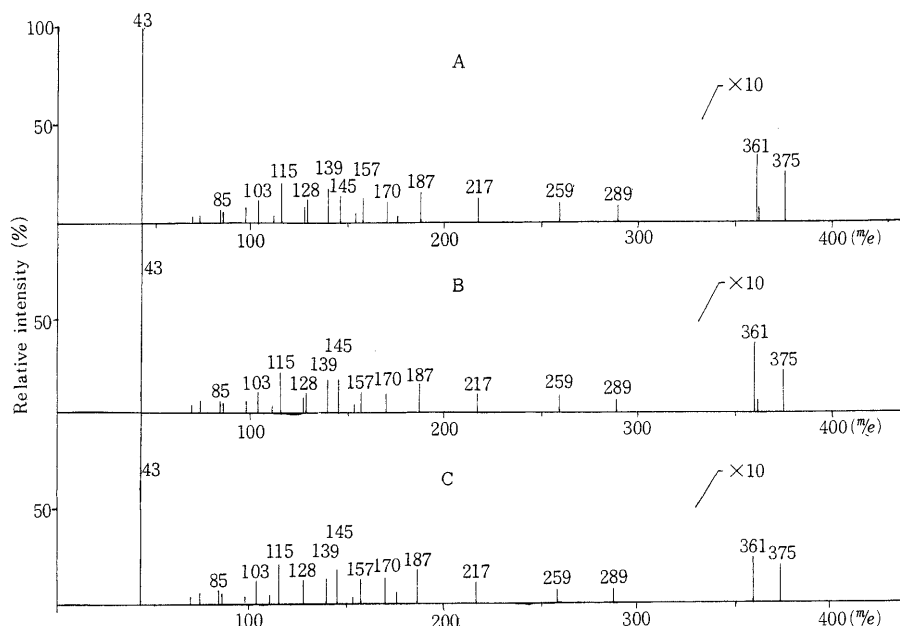


Fig.4 Mass spectra of alditol acetate

A: Mannitol acetate(M^+ 434)
 B: Glucitol acetate(M^+ 434)
 C: Galactitol acetate(M^+ 434)

される。Fig.4にこれらのマスペクトルを示した。

m/e 361 は $M^+ - 73$ であり、さらにこのイオンから $-CH_2OCOCH_3$ が脱離した m/e 289 が観察され、ペンチトールアセテートと同様な開裂経路をとっていることがわかる。

マルチトールアセテート及びラクチトールアセテートでは、 m/e 603 に最高質量数のピークが観察される。

m/e 375, 361 はヘキシトールアセテートの開裂イオンと共通しているが、 m/e 169, 153, 109 などの開裂イオンは、ヘキシトールアセテートでは観察されない (Fig.5)。

4 要 約

リボース、アラビノース、キシロース、グルコース、マンノース、ガラクトース、マルトース及びラクトースを $NaBH_4$ で還元してアルジトールとしたのち、アセチル誘導体にし、これをガスクロマトグラフィーで分離した。これらのアルジトールアセテートは、ガスクロマトグラフィーにより1個のピークを示し、PEG-20M をカラム充てん剤とした場合、ペントースとヘキソース間の分離は良好であった。マルトースとラクトースはPEG-20M ではピークとして検出できなかった。マンニトールアセテートとグルチトールアセテートの分離は、この条件では充分でない。

これらのアルジトールアセテートのマスペクトルは、

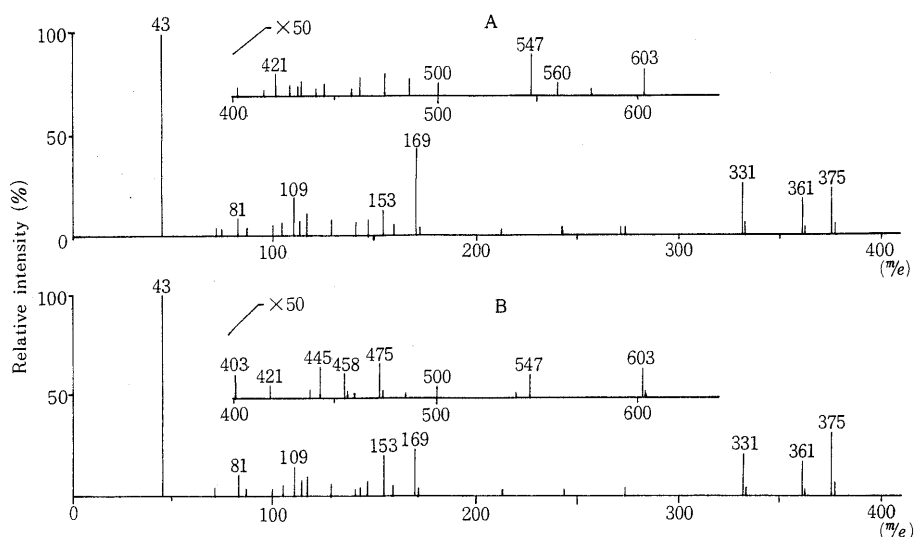


Fig. 5 Mass spectra of maltitol acetate and lactitol acetate

A: Maltitol acetate(M^+766)B: Lactitol acetate(M^+766)

m/e 43 が基準ピークとなっており、分子イオンピークを示さない。開裂様式は分子イオンから脱- $\text{CH}_2\text{OCOCH}_3$ したイオンを出発とする開裂イオンが特徴的であり

同一炭素数のアルジトールアセテートは、フラグメントイオンの強度にわずかな差があるが、よく類似したマススペクトルを与える。

文 献

- 1) C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita and W. W. Wells: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2497(1963).
- 2) J. S. Sawardeker, J. H. Sloneker and A. Jeanes: *Anal. Chem.*, **37**, 1602(1965).
- 3) I. J. Griggs, A. Post, E. R. White, J. A. Finkelstein, W. E. Moeckel, K. g. Holden, J. E. Zarembko and J. A. Weisbach: *Anal. Biochem.*, **43**, 369(1971).
- 4) K. Heyns and H. Scharman: *Ann.*, **667**, 183(1963).
- 5) K. Heyns and H. Müller: *Tetrahedron, Letters*, **1961**, 6061.
- 6) K. Bieman, D. C. DeJongh and H. K. Schnals: *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 1763(1963).
- 7) K. Bieman: "Mass Spectrometry Application to Organic Chemistry" McGraw-Hill Inc. (1962).
- 8) H. Budzikiewicz, C. Djerassi and D. H. Williams: "Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry", Holden-Day(1964).

Analysis of Alditol Acetate by Gas Chromatography and Mass Spectrometry combined with Gas Chromatography

Mitsuo DEKI* and Yasuo HAKAMADA**

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

**Yokohama Customs Laboratory, 1-1, Kaigandori, Naka-ku, Yokohama-shi, Japan

—Received Sep., 14, 1974—