

気相中香気成分分析における SPME 法とオンライン SPE-GC システムを用いた固相捕集-溶媒溶出法の比較

○新川翔也¹、佐々野僚一¹

1. 株式会社アイスティサイエンス

固相マイクロ抽出法（以下 SPME 法）は気相中の香気成分分析法として頻用されるサンプリング法である。SPME 法は捕集用の液相を備えたファイバーを気相部に暴露し、ファイバーに対象成分を濃縮し GC 注入口で熱脱着することにより導入する手法である。主な特徴として溶出に溶媒を使用せず自動化が容易であることなどが挙げられるが、一方でファイバーを再利用することによるキャリーオーバーや劣化、加熱脱離時の分解リスクなどの懸念がある。オンライン SPE-GC システムを用いた固相捕集-溶媒溶出法は逐次交換可能な小型固相への気相吸引・捕集と溶媒溶出による熱ストレスの少ない条件で導入できる手法であるが、SPME 法で得られるデータとの差異は検討されていなかったため上記手法を用いて同一サンプルの分析を行い、検出ピークの比較を行った。

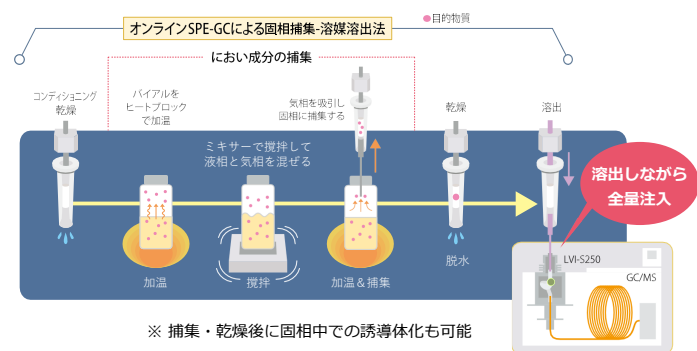
試料にはコピー5 倍水希釈試料を用い、バイアル加熱温度は 80℃に設定した。SPME 法では DVB/C-WR/PDMS ファイバー（膜厚：80 μm ）を用い、注入口温度 290℃とした。固相捕集-溶媒溶出法では小型固相カートリッジ Flash-SPE（アイスティサイエンス）を使用し、気相 20 mL 吸引後、窒素ガスで乾燥させアセトン/ヘキサン混合溶媒で溶出した。胃袋型インサートを備えた大量注入口（LVI-S250, アイスティサイエンス）における注入条件は、初期温度 70℃で溶媒溶出完了後スプリットレスに切り替え 250℃まで昇温とした。

ノンターゲット解析結果を比較すると、固相捕集-溶媒溶出法では前半のピーク面積値が高く、SPME 法では後半のピーク面積値が高い傾向が見られた。揮発性の高い成分においては吸着剤の多い固相カートリッジの使用が効果的であり、オンライン SPE-GC システムを用いた固相捕集-溶媒溶出法が気相中成分の分析法として有用であることが示唆された。

気相中香気成分分析におけるSPME法とオンラインSPE-GCシステムを用いた固相捕集-溶媒溶出法の比較

○新川翔也, 佐々野僚一 (株式会社アイスティサイエンス)

1. システム概要



2. 実験方法

固相捕集溶媒溶出法 前処理手順

全自動前処理 (約25分/検体)

20 mLバイアル

— コーヒー 1.6 mL

— 超純水 6.4 mL

ボルテックス

バイアルトレイにセット



Flash-SPE AXs

気相サンプリング

加温: 80℃ (5+5分)

吸引量: 10 mL×2回

窒素パージ 90秒

溶出: アセトン/ヘキサン (1/3)

GC/MS分析

コンディショニング

アセトン/ヘキサン (1/3)

アセトン

窒素パージ

サンプリング条件およびGC-MS条件

	固相捕集-溶媒溶出法	SPME法
捕集剤	Flash-SPE AXs	SPME ファイバ (80 μm, DVB/C-WR/PDMS)
捕集時間	80℃5分加温後10mL吸引×2回	80℃、約25分
注入方式	SPL-M100FE + LVI-S250	マニュアル注入、標準注入口
インサート	スパイラルインサート	ストレートライナー (内径 2 mm)
注入口温度	70℃ (0.25 min)-100℃/min-250℃	290℃
スプリット比	28 mL/min (70 kPa, 0.25 min) → Splitless (2.75 min) → 50 mL/min (1 min)	Splitless (1 min)
ガスクロマトグラフ	7890B (Agilent)	
流量制御	コンスタントフロー, 1.4 mL/min	
プレカラム	0.25 mm i.d. × 0.5 m	
分析カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.5 μm	
オープン温度	40℃ (4 min) -5℃/min-160℃-30℃/min-320℃ (3 min), Total 35.0 min	
トランスファーライン	290℃	
質量分析計	5977B (Agilent)	
イオン源温度	260℃	
データ取得モード	Scan (m/z 33-350)	

4. 考察と結論

固相捕集-溶媒溶出法

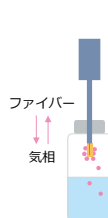


気相中成分を吸引し固相に捕集する

捕集成分の比率は気相中とほぼ同様

蒸気圧が高く濃縮されにくい成分は効率よく捕集可能 (+溶媒効果)

SPME法



分配係数の違いによって濃縮効率が変わる

気相中の組成比を反映していない可能性

蒸気圧の低い成分でも分配係数の高い成分は効率よく捕集可能

固相捕集-溶媒溶出法はSPME法とは異なる特性を持つサンプリング手法である

3. 分析結果

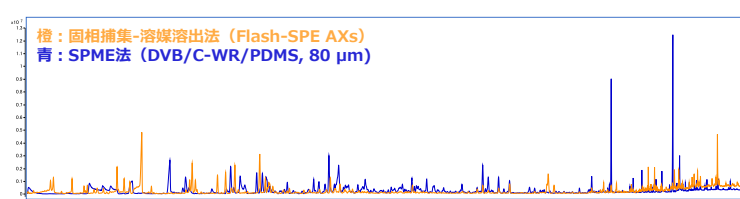


図: 各手法のトータルイオンクロマトグラム (試料: コーヒー)

表: 各手法の全検出ピーク数 (試料: コーヒー)

	固相捕集-溶媒溶出法	SPME法
平均ピーク数	856.0 (n=3)	1069.5 (n=4)
ブランクピーク数	339 (n=1)	637 (n=1)
試料由来ピーク数	517.0	432.5

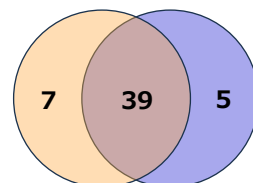
MS-DIAL

- ・ピーク検出、デコンボリューション
- ・ピークアライメント
- ・ピークアノテーション

コーヒー試料からの全検出ピーク数ではSPME法で多い傾向が見られたが、ブランク由来ピークを差し引いた試料由来の検出ピーク数では固相捕集-溶媒溶出法が多く成分を検出できる可能性がある。これらの検出ピークについてスペクトル類似度の高い (>85%) 成分のみに着目し、同定化合物の違いや検出強度について比較を行った。

固相捕集-溶媒溶出法

- ・イソプレナルコール
- ・N-メチルピロール
- ・ジメチルジスルフィド
- ・N-エチルピロール
- ・4-メチルチアゾール
- ・フルフリルメチルエーテル
- ・イソプロペニルベンゼン



SPME法

- ・メトキシフェニルオキシム
- ・トリメチルベンゼン
- ・2,6-ジメチルノナン
- ・トリメチルベンゼン
- ・2-エチルヘキサノール

図: 同定化合物数の比較 (試料: コーヒー)

固相捕集-溶媒溶出法でのみ検出された同定化合物は、硫黄化合物や複素環式化合物などコーヒーの香気形成に寄与されると考えられる成分が含まれていた。一方、SPME法では炭化水素がメインであり香気への寄与は小さいと考えられる。また、SPME法で非常に高い強度で検出されたにも関わらず固相捕集-溶媒溶出法ではほぼ検出されていない成分も確認された。

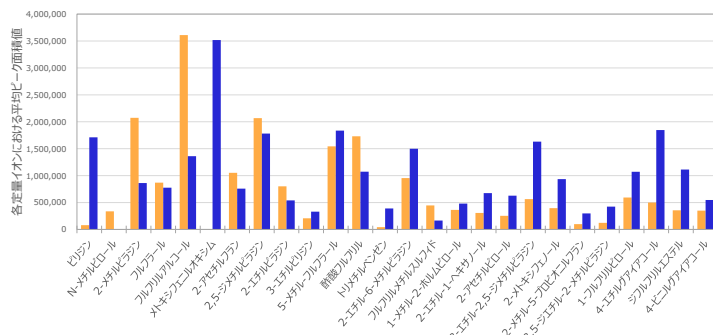


図: 高濃度同定化合物のピーク面積値の比較 (試料: コーヒー、横軸: 保持時間順)

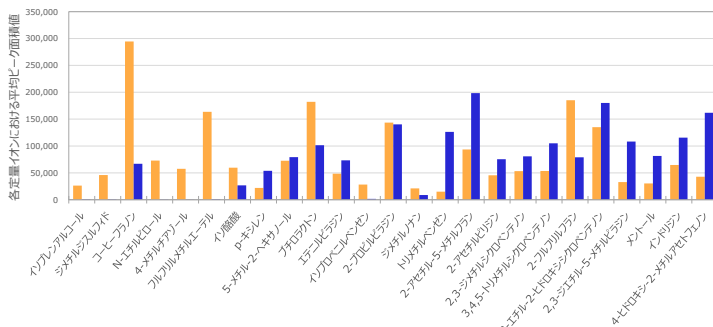


図: 低濃度同定化合物のピーク面積値の比較 (試料: コーヒー、横軸: 保持時間順)

固相捕集-溶媒溶出法では前半に溶出するピークの検出強度が高い傾向があり、SPME法では後半の溶出ピークの検出強度が高い傾向が見られた。特に低濃度成分では固相捕集-溶媒溶出法でのみ検出された成分が多く、後半ピークについても十分な検出強度が得られていた。

固相捕集-溶媒溶出法では溶媒効果が期待できるため、SPME法ではブロードになりやすい前半ピークにおいても良好なピーク形状が得られる。SPME法でもゴールドトラップや内径の細い注入口ライナーを採用することによって前半ピークの検出は改善できる余地がある。