

固相マイクロ抽出包括的2DGC-quadMSを 用いたイェルバマテの揮発性成分の分析

Analysis of the Yerba Mate Volatile Composition Using Solid Phase Microextraction Comprehensive 2D GC–quadMS

Flavio A. Franchina¹, Peter Q. Tranchida¹, Paola Dugo^{1, 2}, Luigi Mondello^{1, 2}

Abstract:

本研究の目的は、ヘッドスペースの固相マイクロ抽出包括的2DGCの手法を用いて、イェルバマテの揮発性画分の分析を行うことである。検出系として、高速スキャン四重極型質量分析計(quadMS)を用い、25Hzのスキャン周波数で運用することで、高品質なマススペクトルが得られた。3D包括的2DGC-quadMS実験の有効性について示す。

Keywords: 包括的 2D GC、四重極型質量分析計、固相マイクロ抽出、イェルバマテ

1. はじめに

イェルバマテ(略称マテ)はお茶に似た飲料で、南米では強 壮剤や疲労回復剤として広く消費されている。この飲料は、多年 生樹木のIlex paraguariensisの幹や葉を浸出させることでつくら れる。

マテは医薬品としても使用され、生薬製剤としても市販されて いる。実際、肝臓保護、中枢神経系刺激、コレステロール低下、 抗リウマチ、抗血栓、抗炎症、および抗酸化などの健康上の効能 を有することが文献に記されている。このような健康上の有益性 が示されている一方で、マテが消費されることによる負の影響も 疫学的研究において報告されている。それはいくつかの混入物 に関係するもので、特に問題となるのが多環芳香族炭化水素 (PAH)である^[1]。

天然の食品のマトリクス中の揮発性成分を詳細に調べようとす ると、単一カラムのGC-MSでは、非常に困難を伴うことがある。 MSは、オーバーラッピングピークの同定を高い信頼性で行いた い場合、非常に有用であるが(SIM、抽出されたイオン、デコン ボリューション処理など)、GCの分離度も高い方が好ましいこと は当然である。残念ながら、試料がやや複雑になってくると、1D GCでは、十分な分析結果が得られないことがある。

本レポートでは、高速スキャン四重極型MSを組み合わせた GC×GCを用いて、イェルバマテの揮発性画分を調べた(Fig. 1a ~c)。自動SPMEを用いて、ブラジルの市販サンプルのヘッドス ペースからの揮発性物質の抽出および濃縮を行った。

2. 実験

C7~ C30アルカン混合物は、シグマアルドリッチ(ミラノ、イタ リア)の厚意により提供してもらった。

マテ試料は、リオグランデ・ド・スル (ブラジル)の現地市場で 購入した。

SPME 3相50/30 µm ファイバー (ジビニルベンゼン/カルボ キセン/ポリジメチルシロキサン)はSupelco (ミラノ、イタリア) から購入し、使用前に必要なコンディショニングを行った。 HS-SPMEの操作には、島津 AOC-5000オートサンプラを用いた。 乾燥したマテ試料150 mgを、そのまま5 mLバイアルに投入した。 試料は80 ℃で15分間加熱 (プレインキュベーション)し、500 rpmで(時計まわりと反時計まわり方向を交互に)撹拌した。

熱脱着クリーニングをあらかじめ施したファイバーを、同じ温度と撹拌速度でHS中に60分間さらした。その後、スプリットレスモード、250℃で1分間、GC注入ポート中でファイバーを熱脱着させた(1分後、100:1のスプリット比を適用)。

島津GC×GCシステムの構成は次のとおりである。

- GC-2010 ガスクロマトグラフ 2 台
- GCMS-QP2010 Ultra 四重極型質量分析計
- AOC-5000オートサンプラ
- ループ型クライオモジュレータ

使用ソフトウェア:

- GCMSsolution version 2.71
- ChromSquare version 2.0

D1カラム	: SLB-5ms 30 m × 0.25 mm I.D. × 0.25 µm <i>di</i> [silphenylene polymer, 極性的にはpoly (5% diphenyl/ 95% methylsiloxane)とほぼ同等] + 2 m × 0.25 mm I.D. (モジュレーション二重ループ形成用空カラム)
D2カラム	: Equity-1701 [poly (14% cyanopropylphenyl/86% dimethyl) siloxane] 1.5 m × 0.1 mm l.D. × 0.1 µm <i>di</i> 、 注入口温度: 280 ℃、注入口圧力: 165.9 kPa
GC1 オーブン温度	: 50 °C (2 min) \rightarrow (3 °C/min) \rightarrow 270 °C (15 min)
GC2 オーブン温度	:GC1に対し+5℃
モジュレーション時間	: 6 sec
MSパラメータ	: スキャンモード (サンプリング周波数 25 Hz) 、 スキャン速度 10,000 u/s (m/z 40–360) 、 インターフェイス温度 250 ℃、イオン源温度 200 ℃
MSイオン化モード	:EI (70 eV) FFNSC 2.0 (スペクトル検索用MSライブラリ)

3. 結果および考察

マテの揮発性成分のプロファイルを解明するため、GC×GCquadMS法を開発した。実験では、2番目のGCオーブン温度を +5℃オフセットさせることで、生じていたラップアラウンドはある 程度解消された。quadMS装置を40~360 m/zの質量範囲で高 速スキャンさせ、25 spectra/sが得られた。この値は定性目的には +分で、ほとんどのピークをほぼ適切に再構成でき、満足できる レベルであった(平均でピーク当たり7~8データポイント)。さら にマススペクトルの変動(ピークスキューイング)に関し、いくつ かの単成分の2Dピークを調べたが、無視できることを確認した。

SPME-GC×GC-quadMS法を最適化することで、分離ピーク数 は著しく増大し、2次元面上で1000以上になった(Fig. 1a ~ c)。 これより、2D空間のかなりの部分が分析物の分離に利用されてい ることがわかる。GC×GC-quadMSデータ処理では、二重のフィ ルタリングを適用した(スペクトル類似度とLRI)。ライブラリスペ クトルと十分な類似性を有し、やや広めの ±20 LRIの範囲に入る 条件で、暫定的に241化合物を同定した。ここで、ややゆるめの LRI制限条件を適用したのは、第2極性カラムの影響を補償する ためである。暫定的に同定された化合物については参考文献2を 参照していただきたい。

ここで注目に値するのは、マテ試料中にいくつかの汚染物質が 確認されたことである。特に顕著なのは、高い類似性(95%)を示す 炭化水素異性体が多く存在していることである(多くのアルカンは 対応する標準がなかったため、同定していない)。典型的な石油化 学製品に見られる炭化水素GC×GCバンドがFig.1bに現れている。

複数のPAH類(参考文献2を参照)の存在は、試料が何らかの 形で鉱油により汚染されていた仮説を裏付けるものであった。た だし、乾燥プロセスにおいて燃焼煙が進入しマトリクスに直接接 触していたなら、このプロセスもPAH類(特に母体PAH類)の混 入源として無視できない。



Fig. 1a ~ c マテの複雑性を示す3つの TIC HS SPME-GC×GC-quadMSの拡大図

4. まとめ

本研究で開発したHS SPME-GC×GC-quadMS法により、ピークの分離および同定化合物数において大幅な改善が示された (GC-quadMS法との比較)。

マテの収穫から製品化までの全生産工程を考慮したリスクアセ スメント評価に向けて、より広範囲な研究が望まれる。先に述べ たように、試料中にはいくつかの有害な汚染物質が検出されてい る。多量の脂肪族炭化水素、およびいくつかの低分子 PAH 類の存 在より、鉱油汚染の可能性が強く示唆される。

参考文献

- [1] Heck et al., J. Food Sci. 72 (2007) R138–R150.
- [2] Purcaro et al., J. Sep. Sci. 32 (2009) 3755–3763.



分析計測事業部 http://www.an.shimadzu.co.jp/

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著作者に帰属しており、権利者の事前の書面による 許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。 掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではあ りません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。 本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行:2015 年 9 月 © Shimadzu Corporation, 2015