COMMENTARY

古いようで新しい分析法
—ガスクロマトグラフィー—

Gas Chromatography; Traditional Still Developing Analytical Tool

小村 啓^{1*}・家田曜世²・落合伸夫²・中原一晃³・馬野克己³Hajime KOMURA,^{1*} Teruyo IEDA,² Nobuo OCHIAI,²Kazuaki NAKAHARA,³ and Katsumi UMANO³¹ (財)サントリー生物有機科学研究所 *Suntory Institute for Bioorganic Research, Shimamoto, Mishima-gun, OSAKA, JAPAN*² ゲステル株式会社 *Gerstel K.K., TOKYO, JAPAN*³ 高田香料株式会社技術開発部 *Takata Koryo Co., Ltd., Amagasaki, HYOGO, JAPAN*

Gas chromatography (GC) is one of the most efficient analytical methods for volatile mixtures. GC can offer suitable combinations to meet analytical needs by choosing proper injection systems, columns, and detectors from the items available. In addition to traditional single-dimensional GC, two-dimensional GC systems are also commercially available. By connecting quadrupole mass spectrometer or time-of-flight mass spectrometer to a recently developed GC system, comprehensive two-dimensional gas chromatograph (GC×GC), identification of four photoreaction products of citral was achieved. Applications using traditional two-dimensional GC are also described.

(Received January 12, 2006; Accepted January 19, 2006)

1. ガスクロマトグラフィー概要

1.1 はじめに

近年、生体成分をターゲットとした研究が多くなったためだろうが、液体クロマトグラフィー（以下 LC）の普及が目覚しく、ガスクロマトグラフィー（以下 GC）はもう時代遅れな分析装置で、LC さえあれば何でもできる、と考えている方も多いただろう。しかし、分析とは、目的（成分）に一番適した方法で行うのが大原則で、揮発性成分の分析ではいまだに、分離、検出のいずれの面からも GC が最適な場合が多い。また同時に、GC も進化（深化）を続けており、まだまだ発展の余地を残している。本報では、最新の進歩も含めて、簡単な分析例を挙げながら GC について解説する。

1.2 簡単な歴史^{1)~3)}

当初「ガスクロマトグラフィー」という言葉は使われてはいないが、多段蒸留は別として成分をガス状にして分離

したクロマトグラフィーの最初の例は、1926 年の Berl らの実験である、といわれている。この実験では活性炭を充填した U 字管を加温し、空気をキャリアに用いてベンゼンとそれ以外のより高沸点の成分を分離しているが、それほど分離能は高くはなかったようだ。その後、各種の充填物、温度、キャリアガスなどの条件が検討され、1942 年に Hesse らはベンゼンとシクロヘキサンの分離を行っている。しかしこれまでのいずれも、現在のガスクロマトグラフィーの基本的な分離モードである、気液分配の原理に基づいたものではなかった。

気液分配クロマトグラフィーによる成分分離は、1941 年にすでに Martin らによって提案されていたが、実際の分離例は 1952 年になって初めて報告されている。この時に使用された「液相」はシリコン DC550、流動パラフィン、グリセリン、ウンデカノール、ステアリン酸など多岐にわたっており、この一連の James と Martin の実験をして今日のガスクロマトグラフィーの誕生とされることが多い。しかしこの時点では成分溶出の検出方法は不十分であったが、1954 年に Ray により熱伝導度の変化を検出する方法が紹介され、1955 年の市販品の出現もあってガスクロマトグラフィーは大きく発展した。当然、この時点ではまだ、液相を吸着させた珪藻土などの担体をカラムに充填した、いわゆるパックドカラムであった。

* Correspondence to: Hajime KOMURA, *Suntory Institute for Bioorganic Research, 1-1-1 Wakayamadai, Shimamoto-cho, Mishima-gun, Osaka 618-8503, JAPAN*, e-mail: hajime_komura@suntory.co.jp

小村 啓, 財団法人 サントリー生物有機科学研究所, 〒618-8503 大阪府三島郡島本町若山台 1-1-1

今日われわれが当然のようにガスクロマトグラフィーで使用しているキャピラリーカラムは、充填カラムとは様相が大きく異なり、中空細管の内壁に液相を薄膜状にコーティングした固定相をもち、この液相と気相の間での気液分配により分離が行われている。この中空カラム方式は1957年にGolayにより紹介されたが、それまでの充填カラムに比べて分離能が格段に優れており、これをきっかけに「高分離能ガスクロマトグラフィー」の言葉が使われるようになった。この時に用いられたキャピラリーカラムはステンレス製であり、現在のようなフレキシブルなフューズドシリカのキャピラリーカラム出現までには、まだ各種の技術的なブレークスルーが必要であったが、ついに1979年Dandenauらによって「自由に曲がるけど折れないカラム」が実現された。その後のフューズドシリカキャピラリーカラムにおける、液相の多様化、熱安定性の向上、カラム内径、膜厚などの多彩さと同時に、価格面での負担の軽減なども幸いし、GCはここ数十年で大きな発展を遂げている。当然ながらこの発展に対する検出器の進歩と多様化、GC全体をコントロールし同時にデータ処理をするコンピューターの進歩の寄与も見逃せない。

1.3 分離の原理は障害物競走

GCは英語で正しくは「GLC」「Gas Liquid Chromatography」というように、気相と液相の関与した気液分配の原理に基づいた分離方法である。すなわち、固定相である液相と移動相である気相の間で成分が分配されながら運ばれる間に、それぞれの化合物の気相と液相に対する分配係数の違いで成分の移動速度に違いが生じることを利用した分離方法で、分離は成分と固定相である液相の親和性の大小に左右される。ちなみに、移動相である気相は液相に悪い影響を与えないように、通常は窒素、ヘリウム、水素などの不活性ガスが使われるが、温度を上げない場合には空気をそのまま用いることも不可能ではない。

ここでLCと比較して考えると、LCでは溶出力を増すために移動相に使用する溶媒組成を変化させるが、GCでは移動相のガスの種類を変えても、LCの場合ほど溶出力に大きな変化は見られない。しかし、移動相および固定相の温度を変化させると気液間の平衡に変化が生じ、高温になるほど気相、すなわち移動相に分配される割合がより多くなるため、温度変化自体を溶出力の制御に使える。通常は40～50℃付近から直線的に温度を上昇させて成分を溶出させるが、それぞれのカラムに応じた最高温度があり、その温度を超えると液相がこぼれ出しカラムの急激な劣化を招くので注意が必要である。昇温速度は通常毎分2～10℃程度の条件を用いているが、温度条件が不明の場合には、まずはカラムメーカーのカatalogデータまたはそのカラムを用いている文献を参考にするのが良いだろう。当然ながら、LC同様移動相の流速を上げる（＝ヘッド圧を上げる）と溶出時間を短縮することはできるが、使用する移動相気体によって異なる理想的な移動線速度が存在するので、必要以上に高いヘッド圧にしないように注意はしたい。

通常市販されているフューズドシリカキャピラリーカラムの場合、内径が0.10～0.53 mm、長さが10～100 mの中空のキャピラリーカラムの内側に0.1～1.0 μm 程度の厚さで固定相である液相が塗ってあり、キャピラリーカラムの物理的な保護のために外側にはポリイミド樹脂が塗ってある。液相の種類は各社ほぼ同等品をそろえているが、液相の製法の違いや塗布方法の違い、膜厚の違いなどからくる分離の違いが時として見られる。この傾向は極性が高いカラムに見られる場合が多い。各社がそろえているカラムの同等品を探す場合、メーカーのカatalogに掲載されているカラム選択ガイドなどの項が参考になる⁴⁾。メーカーのカatalogからもわかるように、多種の液相がそろえられているが、筆者らの経験からすると通常使用する液相はおおむね2種類、多くて3種類程度で、われわれが主な分析対象としている食品香気成分分析の場合には、基本的には低極性のDB-5と極性のDB-Waxの2種類またはそれらの同等品でほとんど事が足りている。通常無極性カラムにおける分離には、成分の沸点が支配的に作用し、フェニルメチルシリコンなどの極性成分の液相における含量が増すごとに極性の要素がわずかず加味される。これに対して極性のDB-Waxでは、ポリエチレングリコールが液相に使用されているため、沸点の要素に成分の極性官能基の影響が強く加味された溶出となる。なお、DB-5およびDB-Waxはわれわれに限らず広く利用されていることもあり、同定の際の参考にもなる保持時間指数の文献データも多い点、便利である。

これらのカラムに加えて、目的に応じて中極性のDB-1701、有機酸など極性の高い成分の分離をよくしたFFAP、シクロデキストリンを修飾した液相をもち光学異性体の分離を可能にしたカラムなどの選択も可能である。これらの一般的なカラムは、カラムの内径（0.10, 0.25, 0.53 mmなど）や長さ（10, 30, 60 mなど）のバリエーションも豊富で、よほど特殊な場合を除いて市販カラムで不自由することはまずない。

1.4 今のGCはコンボか一眼レフカメラのようなもの。 目的に応じてパーツが選べる

GC全体を見ると、分析対象成分、目的、自分のレベルに応じてパーツの組み合わせが選べる点、コンボや一眼レフカメラに似ている。箱に当たるGCオープン（カメラのボディ）を中心に考えると、サンプルの導入方法（ファインダー）、検出器（フィルム）、カラム（レンズ）などをほぼ自由に組み合わせることができる。しかし、メーカー間の壁はカメラ同様かなり高く、主にGCを制御しているソフトとの相性の関係で、メーカーをまたいだ選択は難しいことが多い。

サンプル導入方法には、一番単純なマイクロシリンジで溶液を注入する方法、目的サンプルを含む部分を加熱しその結果生じるガス（揮発成分、熱脱着成分、分解成分）を直接導入する方法など各種あり、いずれの場合もオートサンプラーをつけることで自動化もできる。また、注入したサンプル全量をカラムに送ることもできるが、サンプルの

Table 1. 一般的な GC 用検出器とおよその特徴

検出器名	略号	検出対象・選択性	備 考
水素炎イオン化検出器	FID	普遍的	最も普通
熱伝導度検出器	TCD	普遍的	
炎光度検出器	FPD	硫黄, リン化合物選択的	高感度 濃度の 2 乗比例
硫黄化学発光検出器	SCD	硫黄化合物選択的	高感度
熱イオン化検出器	FTD	窒素, リン化合物選択的	高感度
窒素リン検出器	NPD	〃	〃
電子捕捉検出器	ECD	ハロゲン, カルボニル, ニトロ化合物選択的	高感度 放射線源使用
質量分析検出器	MSD	普遍的 (質量選択的)	通常電子衝撃イオン化 一部化学イオン化も可能
赤外吸収検出器	IRD	普遍的 (官能基選択的)	気相の赤外吸収 スペクトル
原子発光検出器	AED	普遍的 (各元素選択的)	元素組合により 同時測定可能 酸素選択検出可

絶対量が多い場合には注入した一部だけをカラムに送り分離することもできる。後者をスプリット注入というが、これを行うことでカラムに注入されるサンプルのバンドの幅が広がるのが防げ、同時にカラムに必要以上の負荷をかけずに済むため、より良い分離を得ることができる。

なお多くの場合、サンプルを GC に導入するに当たって、より良い分析ができるようにサンプルの前処理を行うことが多いが、この前処理いかんで分析の成否が決まる場合もある。水溶液中に含まれる揮発成分の分析の場合には、通常塩化メチレン、ペンタン、エチルエーテルなどの低沸点溶媒で抽出し、無水硫酸ナトリウムなどの乾燥剤で乾燥後、常圧下で濃縮して分析サンプルを得るが、脂溶性不揮発成分や高沸点成分を多く含む試料の場合には、溶媒抽出前に減圧蒸留などでカラムを汚す危険性のある成分を除去しておくことも必要となる。また、抽出の代わりに直接逆相吸着剤などに固相吸着し、ここから溶媒溶出し溶液注入することも可能だが、最近流行の SPME⁵⁾ や SBSE (TwisterTM)⁶⁾ などを用いる場合には溶媒溶出を省いて直接熱脱着で導入することも可能である。またこれらは気相中の成分の吸着も可能でその応用範囲は広い。しかし、SPME や TwisterTM などの固定化された液相による抽出技術が出現するまでは、気相中に含まれる成分の分析ではテナックス樹脂や活性炭などに成分を吸着し熱脱着する手法が主に使われていた。この方法を飲料や水などに含まれる揮発性成分の分析まで拡張したパージ・アンド・トラップ装置と呼ばれる、液中の揮発性成分をバブリングによって水蒸気とともに気相に追出 (パージ) し、これを捕集 (トラップ) できる、分析の前処理装置も広く用いられており、現在では、香氣成分と同時にトラップされた水分除去の操作までもが自動化された装置も市販されている。

分析目的によって一番左右されるのが検出器の選択で、安価で、感度もそこそこ高く、最も汎用的なのが水素炎イオン化検出器 (FID) である。単に水素と空気を混合し、この中で溶出される成分を燃焼させ、このときに生じるイオンの量を電流値として検出する。この検出器ではいずれの

有機物も存在量にほぼ比例した応答をするので比較的便利で、現在では最も一般的な検出器である。これに対して、過去パックドカラムの時代には極めて一般的であった熱伝導度検出器 (TCD) は、溶出物の量で変化する熱伝導度を、加熱した白金線などの表面からの熱の逃げ具合で測定する検出方法だが、キャピラリーカラムになってからはあまり利用されなくなった。

以上のような汎用的な検出器のほかに検出対象を絞った検出器があり、それらは大きくは特定の元素、官能基を特異的に検出するタイプと、特別な物理測定法に基づく検出器に分けることができる。紙面の関係で頻繁に用いられる検出器を、簡単な特徴とともに Table 1 にまとめるにとどめ、詳細は省略した。なお、検出器ではないが実際に成分を分取するためのフラクションコレクターも市販されている。

食品などの香氣特性の特徴づけに寄与する硫黄や窒素を含む成分は、匂い閾値が低い場合が多くその分含量も少ないため、FID のような普遍的な検出器では見だしにくい。そのような場合、先に述べた元素に特異的な検出器が威力を発揮するが、クロマトグラム上には見えてはいないが、実際には他の成分がピークの下に隠れていることを忘れてはいけない。これは、質量分析器を用いて特異的なイオンのみでクロマトグラムを書かせる単イオン検出モード (SIM) の場合でも同様である。なお、溶媒ピークの下などに潜む微量含有成分を検出しようとする場合、例えば FPD で極端に多い共存成分によって化学発光が消光される例がしばしば見受けられるなど、測定方法によっては見えていない成分の影響を受けてピーク強度が矯正される可能性もある点にも、注意が必要である。

検出器の延長として考えると、生物活性成分の検出を行うための特異的な検出器が生物の器官であろう。昆虫のフェロモンの研究では昆虫の触覚を切り出して、成分がレセプターに結合したときに生じる神経電気信号を記録する「エレクトロアンテノグラム (EAG)」がガスクロマトグラフィーの検出器に用いられたこともあるが、匂いという生

理活性をもつ香気成分分析の場合、人間自体が検出器になることも可能である。カラムの出口に鼻をもっていき、そこで出てくる匂いとその強度を経時的に記録すれば、これは立派な検出器であり、サンプル中の各成分の含量に人間の匂い閾値が加味されたクロマトグラムを得ることができる。これが、匂い嗅ぎガスクロマトグラフィー (GCO) とか GC スニフing と呼ばれる方法で、匂い混合物の中から特に意味のある匂いピークを拾い出すのに欠かせない。これをもう少し定量的にしたい場合には、サンプル原液を例えば 3.16 ($\sqrt{10}$) 倍、10 倍、31.6 倍、100 倍、と段階的に希釈したサンプルを作成し、まず最も薄いサンプルで GCO を行い、匂いが検出された時間を矩形波でマークしてクロマトグラムを作成する。これを順次最も濃いサンプルまで行い、最後にすべてのデータを重ね合わせたクロマトグラムを作成すると、このクロマトグラムで最も高いピーク成分が被検サンプル中で香気的に最も強い影響を与えている成分となる。このような香気成分の匂いの強さをクロマトグラムにしたものを一般にアロマグラムといい、このように段階的等倍希釈のサンプルを用いて分析する方法を、アロマ・エキストラクション・ダイリュション・アナリシス (AEDA) または チャーム分析 (CharmAnalysis™) という。この GCO の最大の欠点は、生身の人間が検出器になるため、立て続けに分析を行うと鼻が疲労して感度が下がることと、個人間で匂いに対する閾値が異なるため強度に差が生じることである。

このように、各種の周辺装置も含めて GC は一つの複雑な装置として機能するが、全体を統一的に制御し、データ取込み、解析するために PC の意義は重要になる。しかし、

GC はまだしっかり機能するが PC が先に使用不能になり、対応する古い OS の PC が購入できないばかりに、GC および周辺機器ごと全体を買い換えねばならない例も多々経験する。この点も考慮して装置は選ぶ必要があるだろう。

1.5 キャピラリーカラムの威力と限界

フューズドシリカキャピラリーカラムの出現で、ピークの分離は極端に改善されたが、天然の食品香気成分のような複雑な混合物の場合、それでも複数の成分が一つのピークを形成してしまう場合も出てくる。Fig. 1 にはある蒸留酒のクロマトグラムを示したが、まるで平原に生える植物のようにも見える。クロマトグラムの感度を上げていくと、今まで何も見えていなかった「土」のようなところでも、「草」が生えているように新しいピークが顔を出してくる。さらに感度を上げると「コケ」が見え、「カビ」も見えてきて際限がない。当然ながら、大きなピークの下にも何らかの小さな成分が隠れている可能性が極めて高い。時には大きなピークに多成分が重なっていることは多々ある。この現実を、例えば質量分析器を検出器としてクロマトグラフィーを行い、いずれかのピークのマススペクトルを得てその成分検索を行った場合、なかなかピッタリのマススペクトルが得られないことから容易に推測される。このような場合、別のカラムで再度クロマトグラフィーを行ってもまた別の成分が重なってくると推測されるし、最初の分析のどの成分が別のカラムによる分析のどのピークに対応するかは推測しにくい。通常は仕方がないので、混合物全体をまずシリカゲルなどのカラムで大まかに分離してから GC を行っている。しかしこの場合、目的成分がどのカラム画分にいるかを GC 分析に先立って知っておくか、最

Fig. 1. 蒸留酒 A のクロマトグラム。感度を上げると無限にピークが見えてくる。

Fig. 2. a: 蒸留酒 B の FID クロマトグラムとハートカット部分 (紗がけ部分), b: 二次元目の TIC クロマトグラム (矢印は匂いピーク位置)

悪の場合すべての画分を分析する必要さえ出てくる点、スピードを重んじる今ではあまり歓迎されない方法になっている。

2. 現在大流行の GC 技術, 2 次元 GC

食品香気成分のように複雑な混合物を分析しようとする場合、特に微量成分に焦点を絞りたい場合には、共存する成分によって目的物が単一成分ピークとして検出できない場合が多い。このような場合、サンプルを何らかの分離手段で前処理し夾雑成分を除く代わりに、とりあえず第一段階目の GC を行い目的成分を含む画分をいったんトラップ中に冷却捕捉 (ハートカット) し、その部分を改めて最初で使用したカラムとは異なった分離特性をもつカラムで再分離すると、目的成分を単一成分ピークとして得られる可能性が高くなる。この方法を二次元ガスクロマトグラフィー (2DGC)⁷⁾ というが、装置的には 2 台のガスクロマトグラフの間にフラクションコレクターのような捕集部分を挟んだものである。この技術には必要な時に検出器側からフラクションコレクター側への流路の切替えが必要で、ロータリーバルブでも可能ではあるが、Dean ら⁸⁾ によって考案された圧力差で流路を切替えるものが現在では一般的で市販もされている。この方法では、一度の注入で数カ所程度の二次元展開が可能になる。この 2DGC の応用例で多く見られるのが成分の光学分割で、これはサンプルの由来の違いで光学異性体の存在比が異なる場合が多く、同時に香気成分の場合には光学異性体がお互いに異なった香気特性、匂い閾値をもつためである。そのような光学分割を必要とする分析には二次元目にシクロデキストリンなどの光学分割の機能をもったカラムを用いる必要がある。

ここで、2DGC の分析例を Fig. 2 に示す。この例では、蒸留酒の中に「金属的」な「青臭さ」がありこの成分を特定することになったが、まず DB-Wax カラムを用いて GC

Fig. 3. 蒸留酒 C のクロマトグラムとピーク番号. カラムは DB-WAX. a: FID 使用, b: FPD 使用

匂い嗅ぎ (GCO) を行ったところ、目的の匂いは酢酸フェネチルおよび C₁₂ 脂肪酸エチルエステルの直前に感じられた。しかし、FID ではその付近にははっきりとしたピークは見いだせず、早速この部分のみをハートカットし引続き Ultra-2 カラム (DB-5 相当) で再分離して匂い嗅ぎを行うと目的の匂いは酢酸フェネチルおよび脂肪酸エステルの間に出現、単独ピークとしても確認できたため、引続き同じ条件で 2DGC-質量分析 (mass spectrometry; MS) を行い、

Fig. 4. a: 蒸留酒 C の FID クロマトグラムとハートカット位置 (A~D), カラムは DB-WAX. b: 二次元目クロマトグラム, カラムは Ultra-2, AED の硫黄検出チャンネル. ピーク番号は Fig. 3 の番号に対応.

データ検索の結果, ピーク成分をイオノイド化合物と同定することができた.

次は別の蒸留酒のクロマトグラムで, Fig. 3 の上段には通常の FID のクロマトグラム, 下段には硫黄化合物に特異的な FPD によるクロマトグラムを示した. 上下で溶出位置は対応させてあるので, 硫黄化合物の「A6」は FID で見えるピーク「ハ」と「ニ」の間, ピーク「1」はピーク「ヘ」と「ト」の間, と FID ではそれぞれのピーク自体は明らかではないがおよその位置は把握できる. そこで先の例と同じカラムの組み合わせで Fig. 4 の上段に示した「A」から「D」の 4 カ所のハートカットによる 2DGC 分析を行い, 二次元目の検出器に AED を用いて硫黄の発光で検出すると, それぞれに対応して 4 本のクロマトグラムが得られて, ハートカットの位置から DB-Wax カラムで名づけたピーク番号の成分の Ultra-2 カラムにおける溶出位置を明らかにすることができた.

このように, 連続した 2DGC 分析をクロマトグラムの全領域にわたって行えば, 原理的にはすべての成分について異なった 2 種類のカラムによる分離平面図を描くことができるが, 多大な時間とサンプル量を必要とする. しかし, このような二次元クロマトグラムが 1 回の注入で描けたら, 今まででは何らかの根拠をもって, よほど努力をしないと見つけにくかった新規成分を見いだすことも, 単に 2 枚の二次元クロマトグラムでピークの有無を比較すれば

よくなる分, かなり楽になるだろう.

3. 最新の GC 技術, 包括的 2 次元 GC (GC×GC)

Fig. 1 に示した例でもわかるように, サンプル中に含まれる成分数が多くなればなるほど, クロマトグラムも複雑になり, その構成成分, 特に微量成分の同定には時間と労力を要するため, 明らかな目的, 目標, 指標の設定が必要となる. しかし, メタボロミックス的な考えに基づいて, サンプルに含まれる成分を網羅的に分析したい場合, 初期の段階では必ずしも指標は確立されておらず, 逆に各成分の同定の必要はない. このような目的には一次元 GC のおよそ 2 乗に相当するピーク解像度を得られる全領域 2 DGC 分析は, 魅力的な分析手段の一つと考えられる. しかし, 先にも述べたように, 現状の 2DGC 装置を用いて全領域にわたって 2 次元分析を行うためには, 多大な時間とサンプル量を必要とし, メタボロミックスのようなある程度まとまった数のサンプルを分析する必要がある場合には到底利用できない. しかし, 現実には 1 回のサンプル注入で全クロマトグラム領域を二次元分析できる手法があり, 装置も市販されている. これが包括的二次元 GC (Comprehensive Two-Dimensional GC) または GC×GC と呼ばれる装置である. GC×GC はいまだ発展中の技術だが基本的な部分はほぼ完成したと考えられる. 原理的には, 一次元目のカラムと二次元目のカラムの間にサンプルを冷却捕捉するカラムをもち, 数秒間程度の設定時間 (捕捉時間) の間, 一次元目から溶出される部分全量を一時捕捉し, この間にすべての二次元目の展開を終わらせる. そして, 二次元目の分析の時間中に捕捉されていた部分を瞬時に加熱しパルス的に二次元目に送り出して, 次の二次元目の分析を行うという単純なものである. 最終的には, 多数の二次元目クロマトグラムがひも状につながったデータとして保存されているので, PC 上でこれを捕捉時間ごとの長さをもつ多数のクロマトグラムに切り分け, 順次平面状に並べて二次元クロマトグラムを作成する. GC×GC では全領域を再展開している関係上単純にいうと解像度は両次元の解像度の積になり, 当然ながらピーク成分同士の解像度が一次元 GC より極端に高くなる. レモンフレーバー清涼飲料の分析では, 一次元 GC を用いた分析では約 40 ピークを確認できたが, 同じサンプルを GC×GC で分析した場合, 容易に 60 スポットを拾うことができた⁹⁾.

Fig. 5 に蒸留の一次元 GC (Fig. 1 と同じクロマトグラム) と GC×GC の例を比較して示した. 一次元 GC クロマトグラム上のピークの形状から, 見るからにオクタン酸エチル (図中の “EtC8”) にはブロードな成分が重なっており, また, イソアミルアルコール (図中の “iAmOH”) の後で溶出される 2 群のピークは明らかに何本にも分かれている. GC×GC チャート上ではこれらに対応するように, 相当する保持時間帯に多数のスポットが見られ, 一次元 GC ではかなり多くの成分が重なって溶出されていたことが確認できる.

次の例はレモン系フレーバーの重要成分であるシトラ

Fig. 5. 蒸留酒 A の GC×GC (下段) と, GC×GC の一次元目と同等カラムによる一次元 GC (上段). 横軸の位置はエチルエステルで合わせてある. 使用カラム: SPB-1 (長さ 15 m, 内径 0.25 mm) + Supelco Wax-10 (長さ 0.7 m, 内径 0.1 mm) 以降の GC×GC は同じ組合せまたはほぼ同等品の組合せを使用.

Fig. 6. シトラール光劣化反応混合物の GC×GC/FID クロマトグラム的一部分. 楕円で囲んだ部分が反応生成物.

ル (=ゲラニール+ネラル) の光劣化反応混合物の GC×GC 部分拡大図 (Fig. 6) を示した. 図中の楕円で囲んだ部分のスポットが光反応物であるが, 光反応生成物の報告はあるものの^{10), 11)}, 標品は市販されていないため入手できず, どのスポットがどの成分に対応するかはこのままでは同定できなかった. これが FID を検出器としている場合の最大の問題点である. 通常の一次元 GC の場合には次の手段として GC/MS を行い質量分析の情報から成分同定が可能になるが, GC×GC においては二次元目の分離を通常 10 秒以内という超高速で行う関係上, 検出器には最低 20 Hz, 好ましくは 100 Hz 程度またはそれ以上のデー

タ取り周期が要求され, 必ずしもすべての検出器が十分に対応できるとは限らない. 質量分析装置を検出器として用いる場合, このデータ取り周期にそのままに対応できるのは飛行時間 (TOF) 型質量分析装置のみで, 通常 GC に用いている四重極 (Q) 型質量分析装置では, 観測質量幅をかなり制限しないと対応できないのが現状である. しかし, 反応物の分子量は 200 以下であることは明らかであるため, Agilent 社製 6890 型 GC を改造した Zoex 社製 GC×GC にファスト・スキャン・モードにグレードアップした Agilent 社製 5973N を接続して, 測定範囲を $m/z=50 \sim 200$ に絞り可能な限りデータ取り頻度を上げて 28.5 Hz で測定することを考え, 内部標準を含まないサンプルを用いて GC×GC/Q-MS を試みた. また同時に Leco 社 Pegasus Gc×Gc-TOFMS 装置を用いて, 測定範囲 $m/z=35 \sim 350$, データ取り頻度 100 Hz で GC×GC/TOF-MS も行った. それぞれの GC×GC チャートを Fig. 7 および 8 に示した. それぞれの MS の結果を見ると, GC×GC/Q-MS の結果では, フォトシトラール A(1) および B(2) がデータベース検索の結果同定できたが, 主要スポットの残り 2 成分は正しい結果には至らなかったため, これらを一次元目保持時間の長いほうから Unknown 1 および 2 とした. 次に GC×GC/TOF-MS の結果では, Unknown 1 としたほうもデータベースで化合物 3 と同定できたが, Unknown 2 に関しては同定には至らなかった. そこでシトラール光反応生成物として報告されている化合

Fig. 7. Fig. 6 相当部分の GC×GC/Q-MS クロマトグラム.

Fig. 8. Fig. 6 相当部分の GC×GC/TOF-MS クロマトグラム.

Fig. 9. Unknown 2 (4) ピークのマススペクトルの比較. Q-MS (上段) および TOF-MS (下段)

物のマススペクトルデータ¹⁰⁾を実際の Unknown 2 の GC×GC/Q-MS の結果と比較したところ、化合物 4 のデータが一致し同定に至った。なお、当然のことながら大部分の市販データベースは Q-MS 対応のものであるが、Q-MS と TOF-MS ではフラグメントイオンのバランスが Fig. 9 に示した Unknown 2 の例のように異なってくるため、TOF-MS の場合には必要に応じて自分のデータベースを作り直す必要も出てくる。

このように、汎用型の Q 型質量分析装置でもアップグレードが必要な場合もあり、同時に測定質量数幅などに制約は生じるが、現実的には GC×GC の検出器として十分機能することが確認できた。このことは、高価であるという TOF 型質量分析装置の問題点を考えるとき、利用者の事情に合った装置選択という意味で、MS に関しても大幅に自由度が上がったといえる。

4. おわりに

以上、いかにも GC が分析器機として有利なように書いてきたが、冒頭にも触れたように、分析とはその目的に最も適した方法で行うのが原則である点を忘れてはいけない。最近いくつかの異なった技術をつなげて行う「ハイフォネーテッド技術」が盛んになり、当然その中には LC/GC など GC に関連する技術も含まれる。このようなハイフォネーションは技術的な問題点はあるだろうが、やろうと思えばいくらでも可能になるだろう。しかし、本当にその方法に意味があるかどうかは実際に分析を行う人自身がしっかり見極める必要がある。その見極めの中から、さらに斬新で有用な技術が生まれ、発展することを期待したい。

謝 辞 本報告の内容のうち、2DGC に関してはサントリー(株)時代の同僚で、ともに香気成分分析のグループを立ち上げ、実験してきた谷口貴之氏および宮島哲史氏が中心になって得たデータである。この場を借りて心から感謝する。

文 献

- 1) 松隈 昭, “ガスクロマトグラフィーの実際” 第2版, 東京化学同人, 東京 (1978).
- 2) R. R. Freeman 編, “キャピラリー ガスクロマトグラフィー” 第2版, 横河・ヒューレット・パッカード株式会社, (1983).
- 3) K. J. Hyver, P. Sandra 著, 細川秀治訳, “キャピラリーガスクロマトグラフィー” 第3版, 横河電機株式会社, (1990).
- 4) 例えば, Agilent カラム分析機器部品カタログ, 2005-2006 年版, p. 319 など.
- 5) R. Belardi and J. Pawliszyn, *Water Pollution Research J.*

- of Canada*, **24**, 179 (1989); D. Louch, S. Motlagh, and J. Pawliszyn, *Anal. Chem.*, **64**, 1187 (1992); S. Hawthorne, D. Miller, J. Pawliszyn, and C. Arthur, *J. Chromatogr.*, **603**, 185 (1992).
- 6) E. Baltussen, P. Sandra, F. David, and C. Cramers, *J. Microcolumn Separations*, **11**, 737 (1999).
- 7) 例えば, 小村 啓, ふんせき, 568 (1997).
- 8) D. R. Deans, *Chromatographia*, **1**, 18 (1968).
- 9) H. Komura and M. Kawamura, “Food Flavor and Chemistry,” ed. by A. M. Spanier, F. Shahidi, T. H. Parliament, C. Mussinan, C.-T. Ho, and E. Tratras Contis, The Royal Society of Chemistry, Cambridge (2005), p. 243.
- 10) Y. Iwanami, H. Tateba, N. Kodama, and K. Kishino, *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 463 (1997).
- 11) 村西修一, 植野寿夫, 清原 進, 増田秀樹, 第44回香料・テルペン及び精油化学に関する討論会講演要旨集, p. 285 (2000).

Keywords: Gas chromatography, 2DGC, GC×GC/MS, Comprehensive 2DGC