GC の保持指標計算式を利用した脂肪族化合物の 推定プログラム

田村啓敏*・木原真吾*・中原一晃*・杉沢 博*

A Program for Predicting Aliphatic Compounds Using Linear Equations of GC Retention Index Value

Hirotoishi TAMURA*, Shingo KIHARA*, Kazuaki NAKAHARA*
and Hiroshi SUGISAWA*

* Department of Bioresource Science, Kagawa University,
Miki-cho, Kagawa-ken 761-07

Retention indices of a homologous series of aliphatic compounds on a gas chromatogram were expressed as a linear equation. Fifty three equations for aliphatic compounds, such as alkanals, alkenals, carboxylic acids, alkanones, alkanols and so on, were calculated using a program written in BASIC language to find out possible compounds for unknowns. A retention index I value of an unknown compound measured on an OV 101 (nonpolar column) or Carbowax 20 M, (polar column) was compared with those calculated from several linear equations, and the compounds having a small difference between observed I value and calculated ones were displayed on a monitor as a table. In the compounds listed in both tables, the compound identified was displayed on the monitor as the most suitable compound.

(Received Jan. 16, 1991)

Kovats index で代表される GC での保持指標はその再現性が一般に認められるに至り、揮発成分同定における補助手段として広く活用されている。溶融シリカキャピラリーカラムによる揮発性成分の分析では保持指標は欠かせない定数となりつつある。我々は現在までに GC クロマトグラム上の数種の既知物質の保持指標値から未知物質の保持指標値を計算するプログラム¹⁾、市販の記録計のベーシック機能を利用し、記録紙上に保持時間と共に保持指標値を同時に自動出力させるプログラム²⁾、保持指標値の計算、編集、検索の機能を持つプロセッサシステムの開発³⁾を行ってきた。我々とほぼ同時に IBM 用ベーシックプログラムも最近報告された⁴⁾⁵⁾、保持指標値の利用により、従来モノテルペン、セスキテルペン類などのように GC/MS でのスペクトルパターンが類似しているため同定が困難であった化合

物の同定が容易になった。

化合物の保持指標値はこれを収集し、直接それらの数値をデータベースとして利用出来る。さらに、それぞれの化合物の炭素鎖、官能基、および両者の相互作用の特性を含んだ数値であるため、これら数値を官能基に由来する値と炭素鎖にあたる値に分割し、それらの値から未知物質の構造推定ができる。そこで、Kovats 以来、多くの研究者がこの値から化合物の構造を推定することを試みた^{6)~9)}。

すなわち、極性カラムで求めた化合物の保持指標 (I) 値から非極性カラムで求めた I 値を減じた ΔI は官能基特性を示す値として、さまざまな化合物についてこの値が求められた。たとえば、2-hexanone では 298, 2-pentanol では 406 の数値が ΔI 値として表わされ⁷⁾、官能基ごとに一定の値を示すので、これを化合物ごとの

* 香川大学農学部生物資源科学科 (〒761-07 香川県木田郡三木町池戸)

固有値として構造推定に利用できる。

別の方法として、I 値は直鎖状化合物の場合には主鎖となる炭素数に 100 を乗じた値とその官能基の寄与値 (H, increment) との和で表わせることが示された⁹⁾。H 値も I と同様化合物に固有な値であるので未知化合物の構造推定に利用できる。しかし最近、より厳密な測定がなされるようになり、I 値には寄与値の他に、カラムの固定層液体に対する官能基と炭素主鎖の相互作用 (遮蔽効果; shielding effect) に起因する値 (H_s) を考慮する必要があることが指摘され¹⁰⁾¹¹⁾、これらの数値を用いた化合物の推定法はより複雑になってきた。また、これらの値は従来恒温分析条件下で測定されていたので、天然の揮発成分のように沸点が広範囲にわたり多成分系の場合には昇温分析が好まれるため、実用性の観点から問題があった。

現在、文献上でみられる多くの I 値は昇温条件下で測定されている。この条件で計算された I 値も恒温条件下で測定した I 値と同様に再現性が高いことがすでに報告されている¹²⁾、我々の研究室で行った昇温分析条件下における I 値の測定誤差は 0.1~0.4% の範囲内であった。

揮発性脂肪族化合物には食品の劣化油脂の分解物や昆虫のフェロモン、植物の青葉臭など微量にしか検出できないが生理・生物学的に重要な成分がある。この低分子量の揮発性脂肪族化合物の構造推定を目的とし、同族列ごとに昇温分析条件下で利用出来る I 値の計算式を作り化合物の検索、推定ができる BASIC 言語によるプログラムの開発を行ったので報告する。

実験方法

1. 計算式の作成

計算式を作るにあたり、それぞれ必要なアルデヒド、ケトン、アルコールの多くは市販品を精製することなく利用した。また、不飽和アルコールはじめ市販品が利用出来ないものは化学合成した。化合物の調製法については別報で述べた¹³⁾。保持指標 (I) 値計算式の作成に当たってはそれぞれ同族列の化合物の中から 4 つの化合物を選び下記の GC 分析条件でそれぞれの I 値を測定した。得られた I 値を化合物の炭素数に対してプロットし、4 つの測定データからの誤差が最小になるように最小二乗法により回帰式を算出した¹³⁾。

2. プログラムの作成

プログラムは BASIC 言語で書かれ、NEC、IBM、Macintosh で利用できる。NEC では N 88 BASIC、

IBM、Macintosh では Microsoft QuickBASIC (Microsoft 社、IBM ver 4.0、Macintosh ver. 1.0) を利用した。ここでは QuickBASIC で書かれたプログラムの流れ図及びそのプログラムを示した。

3. 分析条件

GC: 島津 GC-9 A, カラム FS-WCOT, OV 101, 50 m×0.25 mm, カラム温度 80~200°C, 昇温 2°C/min; キャリヤーガス N_2 0.63 ml/min; スプリット比 1:40。島津 GC-6 A, カラム FS-WCOT, Carbowax 20 M; 50 m×0.25 mm, カラム温度 80~180°C, 昇温 2°C/min; キャリヤーガス N_2 0.63 ml/min; スプリット比 1:40。

実験結果及び考察

Fig. 1 に本プログラムの流れ図を示した。各同族列ごとの保持指標計算に必要な計算式は一次方程式として表され、アルデヒド、ケトン、アルコールなど合計 53 種の式を Fig. 1 の calculation の部分に挿入した。変数 N にその化合物の炭素数を代入するとその同族列での保持指標 I 値が計算される。実際には変数 N はプログラムに入力する I 値 [Fig. 2 のプログラム中では I 値を Z で示した。] から自動的に計算される。次に、計算式から求められた I 値と入力した未知化合物の I 値の比較により化合物の推定を行う。

実際に計算式より求めた I 値と未知物質の I 値の比較をどのように行ったのかを以下、具体的に Fig. 2 のプログラムの行番号 1~8 000 に沿って説明する。

あらかじめ未知物質の GC 保持指標値を保持指標自動印字機能を持った記録計²⁾ (たとえば島津クロマトパックなど)、あるいは次に示した Kovats index 計算式から直接求めておく。

$$I = 100M + 100(N - M) \times (\log t_a - \log t_m) / (\log t_n - \log t_m)$$

(N, M 基準となる n -パラフィンの炭素数, t_a, t_m, t_n 未知物質 A, n -パラフィン M, N の GC の保持時間, ただし $t_m < t_a < t_n$)

本プログラムをスタートした後、GC 分析に用いたカラムの種類、OV 101 (1)、Carbowax 20 M (2)、両方のカラム (3) のいずれかを選択し、相当する番号を入力する。以下カラムとして OV 101 (1) が選択された場合について記述する。計算で求めた I 値を入力する。入力した数値はプログラム中の 80 行の命令操作により 100 で除され、100 行でその値は整数化される (J)。この操作により推定化合物の炭素数が決まる。ところが、

Fig. 1 Flow chart of the program for predicting aliphatic compounds having possible retention index values

寄与値 H (I 値から同じ炭素数のパラフィンの I 値を減じた値) は 2 つのパラフィンの I 値の差の最小値, 100 より大きいことがしばしばある。

実際, H は -20 (オレフィン) から 450 (カルボン酸) の幅がある。そのため真の推定化合物の炭素数はさらに J 値より 4 ほど減じたものから 1 加えたものまで可能性がある。そこでこれらすべての可能な化合物の炭素数を 140~410 行に示した計算式の N に順次入力させた。プログラムによって計算された I 値は最初に入力した実測値と必ずしも一致しないので、両者を 500, 510 行で比較し、この差の絶対値が 4 以内であればプリンターに出力するように設計した。カラムとして Carbowax 20 M (2) が選ばれた場合、OV-101 での 50~590 行の内容がほぼ繰り返されるので OV-101 の行番号に対応させて 3050~3590 に書いた。ここでは記載を省略した。おもな相違点はデータの入出力の画面上での位置指定のため location の設定値、実測 I 値と計算より求めた I

値との誤差幅を ±5 としたこと、110 行目の i に対応する 3110 行目の ii 値を -7 としたことである。

Table 1 に示したモデル化合物 14 種を選び、極性カラム (Carbowax 20 M)、非極性カラム (OV 101) の 2 本のカラムから得られた保持指標 I 値を本プログラムに入力し、化合物の検索を行った。データの出力形式は Fig. 3 に示したように使用したカラム名が記録された後、入力した I 値、一行空けて回帰式から求めた候補物質の I 値がプリントアウトされる。このプログラムでは入力した I 値と回帰式より求めた I 値との差が検索幅内にあるものすべてがプリンター上に出力される。両カラムとも一つの未知物質の I 値に対し数個の候補物質を出力した。未知物質として入力した 14 化合物すべてについて計算式プログラムにより正しい化合物を候補物質としてプリンターに出力した。さらに 14 化合物について、両方のカラムで得られた結果を照合してみると 14 の化合物すべてで只 1 つのもののみが共通する化合

```

1   CLS
10  DIM a(29, 8):DIM N$(29), b(29), c(29)
20  DIM bb(29,11):DIM NN$(29), d(29), e(29)
30  LOCATE 1,10:INPUT"column? OV 101(1)/PEG20M(2)/both(3), (1, 2, 3)"; aa
40  IF aa= 2 THEN GOTO 3030
50  LOCATE 3, 1:INPUT "Retention Index of OV 101"; z
60  IF z=0 THEN GOTO 8000
70  LOCATE 4,1:PRINT "OV 101";z
80  m=z/100
90  PRINT "-----"
100 j=FIX (m)
110 i=-4
120 k=1:kk=1
130 x=j+i
135 REM-----siki ov-101-----
140 a(0,k)=101.5*x + 168.5:N$(0)="aldehyde"
145 :
410 a(27,k)=100*x + 243.4:N$(27)="4-(Z)-alken-1-ol"
420 REM -----
450 i=i+1
460 k=k+1
470 IF i=2 THEN GOTO 480 ELSE GOTO 130
480 FOR N=0 TO 27
490 FOR k=1 TO 7
500 b(N)=a(N,k) - z: c(N)=ABS(b(N))
510 IF c(N)<4 THEN GOSUB 550
520 IF N=27 THEN GOTO 580
530 NEXT k
540 NEXT N
550 i=j-5+k
560 PRINT a(N,k);";C-";i;";";N$(N)
570 RETURN 520
580 IF aa=3 THEN GOTO 3030
590 IF aa=1 THEN FOR u=1 TO 10000: NEXT:CLS:GOTO 50
600 GOTO 470
3000 LOCATE 2,1:PRINT "Both column"
3010 GOTO 3050
3020 REM -----PEG 20 M-----
3040 IF aa=3 THEN GOTO 3000
3050 LOCATE 3, 30:INPUT "Retention Index of 20M"; zz
3590 FOR u=1 TO 10000 :NEXT u:CLS:GOTO 3050
5000 REM -----both column analysis----
5010 LOCATE 16, 6:PRINT " .....table matching-----"
5020 g=0
5025 REM----ov101
5030 FOR N=0 TO 27
5040 FOR k=1 TO 7
5050 b(N)=a(N,k) - z: c(N)=ABS(b(N))
5060 IF c(N)<4 THEN GOTO 6010
5070 IF N=27 THEN GOTO 7060
5080 NEXT k
5090 NEXT N
6000 REM----20m----
6010 i=j-5+k
6030 FOR NN=0 TO 26
6040 FOR kk=1 TO 11
6050 d(NN)=bb(NN,kk)- zz: e(NN)=ABS(d(NN))
6060 IF e(NN)<5 THEN GOTO 6100
6070 IF NN=26 THEN GOTO 5070
6080 NEXT kk
6090 NEXT NN
6095 REM---calculation----
6100 ii=jj-8+kk
7000 IF i=ii AND N$(N)=NN$(NN) THEN GOTO 7020
7010 GOTO 6070
7020 g=1
7030 PRINT "
7040 PRINT" matching: C-";i;";";N$(N)
7050 GOTO 5070
7060 IF g=1 THEN GOTO 7090
7070 PRINT " mismatching---try again!"
7080 GOTO 3050
7090 REM---
7100 CLS
7110 GOTO 50
8000 END

```

Fig. 2 List of the program for predicting aliphatic compounds having possible retention index values

Both column		Retention Index of 20M	
Retention Index of OV 101		Retention Index of 20M	
OV 101	1763	PEG 20M	2269
1769.5 ; C-16 ; 2-alkanone		2267.7 ; C-15 ; 1-alkanol	
1767.7 ; C-16 ; 3-alkanone		2274.2 ; C-17 ; 4-alkanol	
1757.7 ; C-16 ; 4-alkanone		2278.6 ; C-22 ; (E)-2-alkene	
1757 ; C-15 ; 1-alkanol			
1772.2 ; C-16 ; 4-alkanol			
1756.7 ; C-14 ; carboxylic acid			
1759 ; C-15 ; (E)-2-alken-1-ol			
1759.3 ; C-15 ; (Z)-2-alken-1-ol			

..... table matching

matching C-15, 1-alkanol

Fig. 3 Example for table matching result using 53 kinds of retention index equations

Table 1 List of model compounds and their retention index values

No. Compound	Retention Index	
	OV 101	Carbowax 20 M
1 hexanal	775	1 094
2 heptanal	878	1 196
3 decanal	1 185	1 508
4 octadecanal	1 995	2 343
5 2-octanone	969	1 294
6 3-octanone	966	1 264
7 4-octanone	953	1 236
8 decanol	1 255	1 765
9 (E)-2-decen-1-ol	1 251	1 819
10 (Z)-2-decen-1-ol	1 251	1 819
11 (E)-3-decen-1-ol	1 231	1 765
12 (Z)-3-decen-1-ol	1 237	1 790
13 (E)-3-pentadecene	1 491	1 540
14 (Z)-3-pentadecene	1 495	1 548

物として選ばれた。本プログラムは OV-101 と Carbowax 20 M のカラムで別々に推定された結果とともに両カラムで共通して選ばれた物質も同時に表示できるようになっている (Fig. 3)。これにより共通した化合物の名前及び I 値を即座に確認できた。プログラムでは 5 000~7 080 行がその内容である。両カラムで検索幅以内に入ったものについてその炭素数と化合物名が同時に一致するものが適切化合物としてプリントアウトできる

よう 7 000 行目に指示した。さらに保持指標差 ΔI の式も I 式の代わりにプログラムに入力でき、これより未知化合物の官能基の推定もできる。以上の方法は天然香気成分の推定に利用できるものと考えられる。

要 約

C₅~C₁₅ の脂肪族化合物の中から同族列ごとに 4 化合物を選び、極性カラムと非極性カラムについて、昇温条件下で GC 分析し、それぞれ保持指標 (I) 値を求めた。得られた I 値の脂肪族化合物の主鎖の炭素数に対する回帰直線式を作成した。回帰式の係数は最小二乗法で求めた。この式を使い、BASIC 言語のプログラムを作成した。本プログラムは未知化合物の I 値を入力すると推定化合物名、回帰式より求めた I 値を出力できる。14 種のモデル化合物を使い、このプログラムの有用性を示した。

本研究の一部は第 356 回日本農芸化学会関西支部大会 (高松)、第 34 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 (高松) において発表した。

文 献

- 1) 田村啓敏・杉沢 博: 日食工誌, **36**, 148 (1989).
- 2) 杉沢 博・田村啓敏・中原一晃: 日食工誌, **35**, 709 (1988).
- 3) 杉沢 博: 日本農芸化学会研究小集会, フレーバー研究におけるデータベースの利用とその展開, 要旨集, p. 1, 東京 (1986).
- 4) FURR, H.C.: *J. Chrom. Sci.*, **27**, 216 (1989).

- 5) TEJEDA, S.B. and SIGSBY, J.E.: *J. Chrom. Sci.*, **26**, 494 (1988).
- 6) KOVATS, E.: *Adv. Chromatogr.*, **1**, 229 (1965).
- 7) DIELMAN, G., SCHWENGERS, D. and SCHOMBURG, G.: *Chromatographia*, **7**, 215 (1974).
- 8) SCHOMBURG, G.: *Chromatographia*, **4**, 286 (1971).
- 9) JENNINGS, W. and SHIBAMOTO, T.: Qualitative analysis of flavor and fragrance volatiles by glass capillary gas chromatography (Academic Press, New York), p. 1 (1980).
- 10) SCHOMBURG, G. and DIELMANN, G.: *J. Chrom. Sci.*, **11**, 151 (1973).
- 11) MORISHITA, F., MURAKITA, H., TAKEMURA, Y. and KOJIMA, T.: *J. Chromatogr.*, **239**, 483 (1982).
- 12) DOOL, H.V.D. and KRATZ, P.D.: *J. Chromatogr.*, **11**, 463 (1963).
- 13) TAMURA, H., KIHARA, S. and SUGISAWA, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 3171 (1990).

(平成3年1月16日受理)