キャピラリーガスクロマトグラフィーによる窒素、酸素、二酸化炭素、アルゴンの同時分析と包装袋内ガス組成の評価への応用

吉野典生*・新居佳孝*・平田 孝**

A Separation System of Nitrogen, Oxygen, Carbon Dioxide and Argon by Capillary Gas Chromatography and Its Application to In-Package Atmosphere

Norio YOSHINO*, Yoshitaka NI* and Takashi HIRATA**

* Tokushima Prefectural Industrial Technology Center,
11-2, Saika-cho, Tokushima-shi 770

** National Food Research Institute, Ministry of Agriculture, Forestry and
Fisheries, 2-1-2, Kannondai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305

A gas chromatographic system equipped with a thermal conductivity detector (TCD) was developed for simultaneous determination of inorganic gases including nitrogen, oxygen, carbon dioxide and argon in flexible pouches. The four gases were separated by a capillary column system of Molsieve 5A PLOT and PoraPLOT Q linked in parallel. The split ratio of the gas flow at a diverging point of the linked column was controlled by adding fused silica capillary tubes in series. When the relative response of TCD to each gas was considered, the atmospheric gas composition analysis by this system proved this system to be highly acceptable. Linearity of calibration curves suggested possible determination of 0.1% oxygen and 0.02% carbon dioxide. Low oxygen levels in a modified atmosphere packaging of pimientos and in packaging with oxygen absorber were accurately monitored during storage. The gas chromatographic procedure developed can be applicable to design for modified atmosphere packaging and oxygen absorber packaging for the optimization of these packaging systems.

(Received Nov. 22, 1993)

各種食品の品質保持にMA (Modified Atmosphere) 包装, 脱酸素剤包装等の包装技術が開発され, 利用されるようになった。これらの包装技術を用い, 適切な包装設計を行うには, 包装袋内のガス組成の評価が必要である。これまでも分流並列方式のカラム¹⁾²⁾や流路切り換えバルブ³⁾を用いたガスクロマト法による窒素, 酸素, 二酸化炭素の同時分析は多数報告^{1)~6)}されている。しかし, 低酸素領域を精度よく評価するためには酸素のピー

クにオーバーラップするアルゴンを分離する必要がある⁷⁾。筆者らは既に活性炭とスチレンジビニルベンゼン共重合体を充填剤とした分流並列カラムを用いて, これら4種無機ガスの同時分析法⁷⁾を報告した。しかし, 酸素とアルゴンを分離するにはスチレンジビニルベンゼン共重合体カラムを-80℃に冷却する必要がある。そこで, 冷却装置の省略, 分析時間の短縮, 注入ガスの少量化等を目的として, 分流並列方式に構成したPLOT

* 徳島県立工業技術センター (〒770 徳島市雑賀町西開 11-2)

** 農林水産省食品総合研究所 (〒305 つくば市観音台 2-1-2)
現京都大学農学部 (〒606 京都市左京区北白川追分町)

(porous-layer open tubular) タイプのキャピラリーカラムと μ -TCD を組み合わせた分析システムを構成し、4 種無機ガスの常温同時定量法を検討した。さらに、この分析システムを用い、脱酸素剤封入包装及びピーマンの MA 包装内の雰囲気を選定したところ、低酸素領域まで迅速に測定、評価することができたので報告する。

実 験 方 法

1. 試薬類及び装置

窒素、酸素、二酸化炭素、アルゴンの標準ガス (99.9% 以上) は日本酸素 (株) 社製のものをを用いた。キャピラリーカラムは Molsieve 5A PLOT (0.32 mm ϕ × 25 m) と PoraPLOT Q (0.53 mm ϕ × 25 m) のいずれもクロムパック社製を用いた。分流比の調整には GL サイエンス (株) 社製のフューズドシリカキャピラリーチューブ (0.32 mm ϕ) を用い、カラムの注入口と検出器への接続には同キャピラリーチューブ (0.53 mm ϕ) を用いた。キャピラリーチューブとキャピラリーカラムもしくはキャピラリーチューブ同士の接続には全てクロムフィットコネクター (クロムパック社製) を用いた。

無機ガスのキャピラリー分析にはセル容量の小さな検出器が必要であるため μ -TCD を用いた。ガスクロマトグラフは HP5890、インテグレーターは HP3396SERIES II、いずれもヒューレットパッカード社製を用いた。

2. ガスの採取

4 種無機ガスの相対感度の測定及び検量線の作成のための純ガスの採取にはシリンジ採取コネクター (GL サイエンス社製) を用いた。シリンジ採取コネクター内及びガスタイトシリンジのデッドボリューム内の空気は採取する純ガスであらかじめ置換し、空気の混入を防いだ。包装袋内のガスの採取はヘリウムで置換したガスタイトシリンジを用い、すばやく分析を行った。なお、針穴のシールと包材の補強のためにはビニールテープを用いた。

ガスタイトシリンジは全てハミルトン社製を用いた。検量線作成のための混合ガスの調製には固定横穴針付の 1700 シリーズ全容量 100 μ l、500 μ l 及びルアーチップ横穴針付の 1000 シリーズ全容量 1000 μ l、5000 μ l を用い、それ以外のガス試料の採取には固定横穴針付の 1700 シリーズ全容量 100 μ l を用いた。

3. 無機ガスの分析条件

キャリアーガス (He) の流量は 10 ml/min、メイクアップガス (He) は 5.4 ml/min、レファレンスガス (He) は 21.0 ml/min に設定した。注入口温度とカラム

オープン温度はともに 40°C、検出器温度は 100°C に設定した。注入口にはバックド注入口を用い、ガス試料 40 μ l をダイレクト注入した。検出感度は低感度に設定して、ほとんどの分析を行ったが、空気中の二酸化炭素のような微量のガスを検出する際には、タイムプログラムを設定して、高感度 ($\times 32$ 倍) 分析に切り替えた。なお、高感度で求めたピーク面積値はすべて低感度の値に換算した。

4. 検量線

セミニードルバルブ付きガス補集瓶 (500 ml、GL サイエンス社製) を窒素置換した後、既知量の酸素もしくは二酸化炭素の純ガスを注入し、所定濃度の混合ガスを調製した。酸素の検量線は混合ガス (酸素: 0.1, 1.0, 3.0%) と空気 (20.9%) を用い、それぞれ 40 μ l を各 1 回注入した 4 点の濃度のピーク面積値から作成した。二酸化炭素の検量線は混合ガス (二酸化炭素: 0.02, 0.1, 1.0, 10.0%) と純ガスをを用い、それぞれ 40 μ l を各 1 回注入した 5 点の濃度のピーク面積値から作成した。

5. 相対感度

ヘリウム中での 4 種無機ガスの μ -TCD に対する相対感度は、注入口と検出器の間に直接フューズドシリカキャピラリーチューブ (0.53 mm ϕ × 10 m) を接続して測定した。各純ガス (注入量: 30 μ l) は二酸化炭素、窒素、酸素、窒素、アルゴンの順に 3 回ずつ注入し、無機ガスの分析と同じ条件でピーク面積値を求めた。二酸化炭素、酸素、アルゴンについて各 3 回測定した平均値を求め、窒素 6 回測定の平均値を 100 として相対感度を算出した。さらに、この一連の測定操作を不連続に 6 回行い、各 6 回算出した相対感度について平均値を求め、4 種類の無機ガスの相対感度の値とした。

6. 脱酸素剤の密封包装

脱酸素剤は三菱ガス化学 (株) 社製のエージレス Z-100 (酸素を吸収するタイプ) とエージレス G-100 (酸素の吸収にともない二酸化炭素を発生するタイプ) を用いた。エージレス Z もしくはエージレス G を 1 個ずつアルミラミネートフィルムで密封し、各包装袋の体積を測定した後、これらの袋を 25°C と 1°C の定温室内に放置した。各袋内のガスを経時的に採取し、40 μ l をガスクロマトグラフで分析した。

7. ピーマンの MA 包装

徳島市上八万町で収穫したピーマン (品種不明) の果実を低温室 (5 $\pm$ 1°C) 内に約 8 時間放置した後、厚さ 30 μ m の低密度ポリエチレン (LDPE-30) と厚さ 60 μ m の低密度ポリエチレン (LDPE-60) の袋 (20 × 20 cm) に、

それぞれ 3 個体ずつを密封し、同低温室にて貯蔵した。各袋内のガスを経時的に採取し、40 μ l をガスクロマトグラフで分析した。

結果および考察

1. 分析条件

今回の分析システムの概略は Fig. 1 のとおりで、冷却装置を省略することで、システムの簡素化を図ることができた。Molsieve 5 A PLOT は内径 0.32 mm, PoraPLOT Q は内径 0.53 mm を使い、PoraPLOT Q に流入するサンプル量を大きくして、空気中の二酸化炭素を測定した。アルゴンと酸素の分離のためには長さ 25 m の Molsieve 5 A PLOT を用いた。同様に PoraPLOT Q も長さ 25 m として、分流比の偏りを少なくした。しかし、これらのカラムを単に並列に接続しただけでは、分流比は PoraPLOT Q 側に大きく偏り、実用的な分析条件が得られなかった。そこで、両カラムでともに適正に近い流速が得られるように、分流比を調整するため、PoraPLOT Q 側の流路にフューズドシリカキャピラリーチューブ (0.32 mm ϕ) を抵抗管として接続した。PoraPLOT Q の前に 8 m, 後に 2 m のキャピラリーチューブを接続したところ、分流比は Molsieve 5 A PLOT が 1 に対し PoraPLOT Q 約 5.4 を得た。

屋外の空気を分析したクロマトグラムを Fig. 2 に示した。まず、PoraPLOT Q で窒素、酸素、アルゴンの混合ピークと二酸化炭素のピークが分離され、次に、Molsieve 5 A PLOT でアルゴン、酸素、窒素が順に分離され、アルゴンと酸素はベースラインまで分離された。今回の試料注入量は 40 μ l であり、前報⁷⁾の 300 μ l に比べ、約 8 分の 1 に少量化することができた。また、一回の分析時間は約 8 分間で、前報⁷⁾の約 14 分間に比べ、約

半分の時間で分析ができた。

2. 検量線

酸素と二酸化炭素の μ -TCD に対するレスポンスの直線性の確認と本分析システムにおける定量限界の確認のため、酸素と二酸化炭素の検量線を作成した (Fig. 3)。酸素、二酸化炭素とともに測定した範囲で直線性を示し、酸素濃度 (0.1%) 及び二酸化炭素濃度 (0.02%) の測定が可能であった。青果物の MA 包装内において二酸化炭素濃度が大気中の濃度 (0.03%) より低くなることはな

Fig. 2 A gas chromatogram of an outdoor atmosphere

Fig. 3 Calibration curves of O₂ and CO₂ obtained by gas chromatography

Injection volume : 40 μ l

Fig. 1 A schematic diagram of the column system simultaneously separating four gases

い⁸⁾。また、低酸素環境下で青果物の品質劣化が始まる限界は約 1% 前後⁹⁾であることから、酸素濃度が 0.1% まで測定できれば MA 包装内のガス評価に充分利用できると考えられる。

しかし、検量線法で定量する場合、キャリアーガスの流速や分流比が変動すると、あらたな検量線の作成が必要になり、迅速な分析が困難になる可能性がある。また、MA 包装の設計等^{8) 10)}に必要なガスの情報は包装袋内の各ガスの相対濃度であり、必ずしも検量線から絶対量を知る必要はない。そこで、計算から相対濃度を求める方法を検討した。

3. 相対感度補正による定量

今回、酸素とアルゴンを分離したことで、各ピークの面積比を相対感度で補正して、各ガスの相対濃度を求めることも可能と考えられた。 μ -TCD は前報⁷⁾で用いた一般的な構造を有する TCD と熱伝導度の検出方法がかなり異なるので、まず μ -TCD に対するヘリウム中での 4 種無機ガスの相対感度を測定した (Table 1)。その結果、今回求めた検出器温度 100°C における相対感度の値は、前報⁷⁾の測定値にほぼ一致することが確認できた。

各ガスの相対濃度の計算は前報⁷⁾に準じて行った。すなわち、分流比および Poraplot Q で分離された二酸化炭素のピーク面積値から Molsiev 5 A PLOT に吸着

された二酸化炭素の面積値を計算により求めた。次に、Molsieve 5 A PLOT で分離されたアルゴン、酸素及び窒素の各面積値と計算から求めた二酸化炭素の面積値を相対感度で除して、各面積値を補正した。こうして得られた各ガスの面積値の総計を 100% として各ガスの相対濃度 (%) を計算した。この方法で求めた空気中の 4 種無機ガスの濃度 (Table 2) は、相対感度で補正することで、一般に受け入れられている空気の標準値¹¹⁾にほぼ一致した。しかし、相対感度で補正しない場合、標準値¹¹⁾と比べ酸素で約 1% の誤差があり、正確な測定ができなかった。この計算で求める方法は注入ガス量を正確に一定にする必要がなく、また、キャリアーガスの流速や分流比の変動の影響を受けにくい等の長所があり、空気についても良好な分析結果が得られた。

4. 脱酸素剤の密封包装

エージレス Z とエージレス G をそれぞれアルミラミネートフィルムに密封し、25°C と 1°C 貯蔵における袋内の雰囲気を経時的に測定した (Fig. 4)。25°C 貯蔵ではエージレス Z、エージレス G とともに密封して約 2 日後に袋内の酸素濃度が 0.1% 以下に減少した。1°C 貯蔵ではエージレス Z で 2.2 日後に 0.33%、エージレス G では 2.5 日後に 3.31% の酸素が存在することを確認できた。

5. ビーマンの MA 包装

厚さの違う低密度ポリエチレンの袋にビーマンを密封し、5°C で貯蔵したときの袋内の雰囲気を経時的に測定した (Fig. 5)。LDPE30 包装区では、呼吸によって袋内の酸素が消費され約 11% まで減少した後、消費される酸素量と、包材を透過する酸素量との間でバランスがとれ、酸素濃度 10~11% に落ちつくことが、本システムで測定できた。一方、LDPE60 包装区では、酸素濃度は約 1.5% まで減少した後、増加に転じることが測定できた。このように透過度の小さい包材で密封したときに起こる

Table 1 Relative responses of μ -TCD to inorganic gases on helium

Gas	Relative response	
	Measured (Mean $\pm$ S.D.)	HIRATA <i>et al.</i> ⁷⁾
Nitrogen	100	100
Oxygen	93.5 $\pm$ 0.19	94.3
Carbon dioxide	118.4 $\pm$ 0.59	115.9
Argon	105.9 $\pm$ 0.43	107.0

Table 2 The atmospheric gas composition (%) analyzed by gas chromatography

Gas	Correction by μ -TCD sensitivity to each gas		Values widely accepted ¹¹⁾
	corrected	not corrected	
Nitrogen	78.42	79.28	78.08
Oxygen	20.65	19.69	20.95
Carbon dioxide	0.03	0.04	0.03
Argon	0.90	0.99	0.93

Fig. 4 Changes in O_2 and CO_2 concentrations in Al laminated film packages with oxygen absorber

●—, O_2 , 25°C; ●---, O_2 , 1°C; ○—, CO_2 , 25°C; ○---, CO_2 , 1°C.

Fig. 5 Changes in O_2 , CO_2 and Ar in film packages during the storage of pimientos at 5°C

●—, O_2 ; ○—, CO_2 ; □—, Ar.

低酸素状態は青果物の嫌気呼吸にともなう品質低下の要因である⁹⁾。しかし、これまでの青果物の MA 包装内ガスを評価した報告^{1)~7)}の中で、アルゴンの存在を考慮した報告は、平田らの報告⁷⁾を除くと見あたらない。今回、酸素とアルゴンを分離したことで酸素濃度を 0.1% まで精度良く測定することが可能になったことは、青果物の呼吸と品質の関連を検討するうえで重要と考えられる。

要 約

キャピラリーガスクロマトグラフィーによる窒素、酸素、二酸化炭素及びアルゴンの常温同時分析を行うため分析システムを設定した。

(1) PoraPLOT Q と Molsieve 5A PLOT を分流並列方式に構成し、フューズドシリカキャピラリーチューブを用い分流比を調整することで、4 種無機ガスを分離できた。

(2) 検量線を作成した結果、酸素は 0.1% まで、二酸化炭素は 0.02% まで定量可能であった。

(3) 検量線を用いないで 4 種無機ガスの濃度を計算で求めるため、 μ -TCD 温度 100°C における 4 種無機ガスの相対感度を求めた。この相対感度で補正することで空気の実験結果は標準値にはば一致した。

(4) 脱酸素剤を封入した袋内およびピーマンをポリエチレンフィルムで密封した袋内の雰囲気ガスを本システムを用い分析した結果、酸素濃度を約 0.1% まで測定することができた。

(5) 以上の結果から、本分析システムにより脱酸素剤封入包装袋内や MA 包装袋内等の低酸素領域を含めた包装袋内の雰囲気ガスの測定、評価が可能ことが確認できた。

文 献

- 1) BRENNER, N., and CIPLINSKI, E. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **72**, 705(1959).
- 2) 山下市二・山口優一・伏見 力・青木章平：日本食品低温保蔵学会誌, **15**, 61 (1989).
- 3) KAREL, M., ISSENBERG, P., RONSIVALLI, L. and JURIN, V. : *Food Technol.*, **3**, 91 (1963).
- 4) CARLIN, F., NGUYEN-THI, C., HILBERT, G. and CHAMBROY, Y. : *J. Food Sci.*, **55**, 1033 (1990).
- 5) FORNEY, C.F., RIJ, R.E. and ROSS, S.R. : *Hortscience*, **24**, 111 (1989).
- 6) BALLANTYNE, A., STARK, R. and SELMAN, J.D. : *Int. J. Food Sci. and Technol.*, **23**, 267 (1988).
- 7) HIRATA, T., NISHIYAMA, T., SATO, H., ISHIKAWA,

-
- Y., SHIINA, T. and ISHITANI, T.: *J. Pack. Sci. Technol.* **2**, 15 (1993).
- 8) 佐藤博実・石川 豊・平田 孝: 日本包装学会誌, **2**, 25 (1993).
- 9) DILLY, D.R.: *J. Food Biochem.* **2**, 235 (1979).
- 10) 石川 豊・佐藤博実・石谷孝佑・平田 孝: 日本包装学会誌, **1**, 143 (1992).
- 11) CRC Handbook of Chemistry and Physics, WEAST, R.C. ed., (CRC Press, Florida), F172 (1981).
- (平成 5 年 11 月 22 日受理)
-