アプリケーションノート

分析装置：Pegasus® BT

GC-MS を使用したレモンおよびライムのエッセンシャルオイルにおける柑橘系アロマのキャラクタリゼーションと比較

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

キーワード：エッセンシャルオイルの分析、アロマプロファイル、キャラクタリゼーション、比較、リテンションインデックス、GC、MS、TOFMS、デコンボリューション

はじめに

エッセンシャルオイルには幅広い用途があり、それ自体が 1 つの完成された製品として利用されたり、ほかの製品の原材料して利用されたりします。こうした汎用性の高さから、エッセンシャルオイルの分析はさまざまな分析目的で行われる重要な研究分野の 1 つとなっています。設定されるさまざまな目標には、品質管理や認証などがあり、ほかにもエッセンシャルオイルの化学成分や、特定の処理や製品における最適な使用法をより良く理解するための一般的なキャラクタリゼーションも含まれています。ガスクロマトグラフィー (GC) と質量分析 (MS) の組合せは、これらの分析ニーズに対応するための優れたツールです。エッセンシャルオイルはおもに揮発性と半揮発性の成分で構成されており、GC-MS を使用することで容易に分離、同定、および定量が可能です。分離はクロマトグラフィーおよびフルスペクトルデータの数学的デコンボリューションにより行われます。一方、同定および定量については、取得したマススペクトルのライブラリ検索およびピークの面積値算出により行われます。このような GC-MS 分析の結果から、構成成分の詳細な情報の取得が可能になり、さまざまな分析目的に対応することができます。この研究では、2 つの柑橘類のエッセンシャルオイル、すなわちレモンとライムのキャラクタリゼーションと比較において GC-MS を使用します。これらの柑橘系アロマプロファイルの類似性と差異を理解するため、個々の化学成分を決定し、それらが持つ柑橘系香気の特性を比較します。サンプル中に存在するその他の成分を知るうえで、フルスペクトルデータ、デコンボリューション、およびリテンションインデックスの決定がどのように役立つかを実証します。

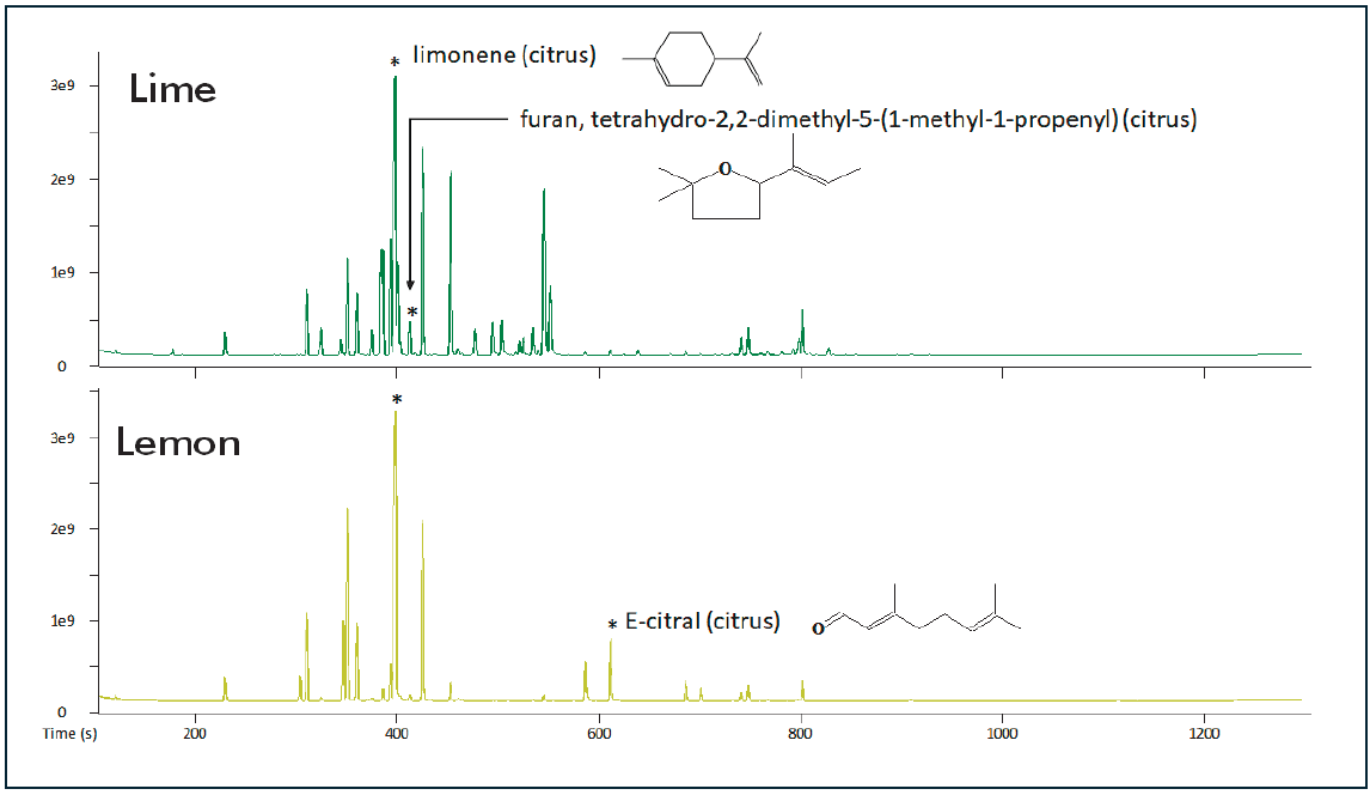


図 1：レモンおよびライムのエッセンシャルオイルの TIC クロマトグラム。ここでは柑橘タイプの香気を持ついくつかの重要な成分に注目しています。

実験概要

表 1 に示すとおり、レモンおよびライムのエッセンシャルオイルをアセトンで 1% に希釈し、GC-TOFMS で分析を行いました。アルカン標準物質 (C6 ～ C24) のデータも、リテンションインデックスを決定するために同じメソッドで分析しました。

表 1：GC-TOFMS (*Pegasus* BT) 分析条件

Gas Chromatograph	Agilent 7890 with LECO L-PAL 3 Autosampler
Injection	1 uL, split 100:1
Inlet	250 °C
Carrier Gas	He @ 1.4 mL/min
Column	Rxi-5ms, 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm coating (Restek)
Temperature Program	40 °C ramp 10 °C/min to 280 °C
Transfer Line	300 °C
Mass Spectrometer	**LECO *Pegasus* BT**
Ion Source Temperature	250 °C
Mass Range	33-500 m/z
Acquisition Rate	10 spectra/s

結果および考察

レモンおよびライムのエッセンシャルオイルの代表的なクロマトグラムを 図 1 に示します。これらのデータから、多数の類似点と差異を観察できます。LECO 社の自動データ処理ソフトウェアにより、個々の成分の同定および相対的な定量情報を取得することができ、各サンプルにおける差異を理解するために役立てることができました。柑橘系の香気を特徴とする 3 つの成分を図 1 に示します。詳細については図 2 ～ 5 で説明します。レモンおよびライムの両方で最も高いピークを示したのは、図 1 でアスタリスクを付けたリモネンで、詳細は図 2 に示すとおりです。同定は、得られたスペクトル情報と NIST ライブラリデータベースとの比較 (シミラリティスコア 936)、および実測のリテンションインデックス (1033) と NIST ライブラリのリテンションインデックス (1030) との比較により行いました。リモネンは、レモンおよびライム両方のエッセンシャルオイル中に同程度存在しています。この成分には柑橘様の香気があり、柑橘系、ハーブ系、テルペン系、およびショウノウ系などと表現されます。これが、レモンおよびライムのエッセンシャルオイルにおいて重要な役割を果たしていると考えられます。

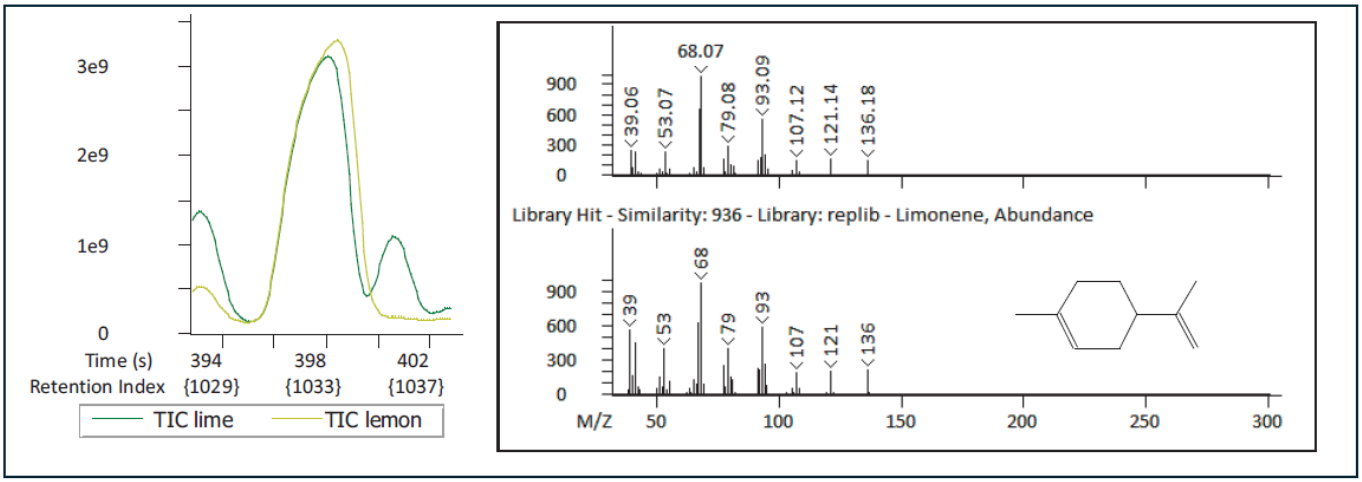


図 2：柑橘系の香気を持つリモネンは、レモンおよびライム両方のエッセンシャルオイルにおいて同程度存在します。

柑橘様の香気を持つほかの成分については、レモンとライムのあいだに差異が存在します。たとえば図 3 に示す (E)-シトラールは、ライムエッセンシャルオイルと比較するとレモンエッセンシャルオイルのほうにより高いレベルで存在することが認められました。同定は、得られたスペクトル情報と NIST ライブラリデータベースとの比較 (シミラリティスコア 902)、および実測のリテンションインデックス (1274) と NIST ライブラリのリテンションインデックス (1270) との比較により行いました。(E)-シトラールにも柑橘様の香気があり、柑橘系やレモン系などと表現されます。レモンのエッセンシャルオイルでは、この成分がライムの場合よりも大きな役割を果たしており、その差異がそれぞれのエッセンシャルオイルにおける柑橘系香気の特徴を決定づけていると考えられます。

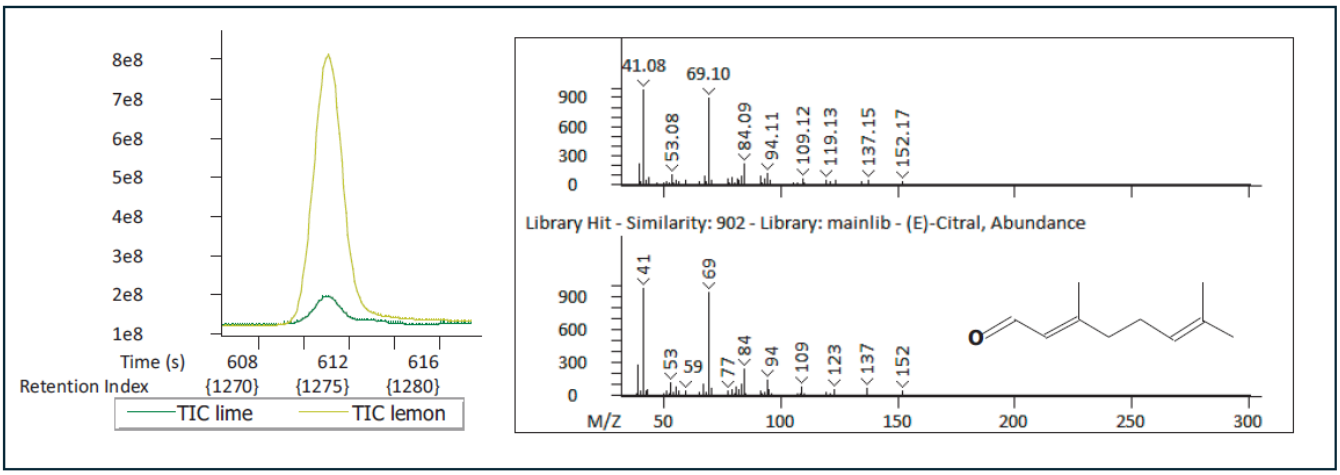


図 3：レモンのエッセンシャルオイルでは、柑橘系の特性を持つ (E)-シトラールがライムよりも高いレベルで検出されています。

各サンプル中のリモネンおよび (E)-シトラール、ならびにそれぞれの相対量は TIC から明確にわかります。これは、両方のケースにおいて成分がクロマトグラム上で分離されているためです。また、クロマトグラム上で共溶出によって成分の差異が不明瞭になる場合は、ソフトウェアのデータ処理ツールの使用がサンプルの理解に役立ちます。デコンボリューションにより、図 4 および 5 に示すとおり、レモンとライムの各エッセンシャルオイルの差異を明瞭にすることができました。

図 4 の TIC 表示では、ライムのエッセンシャルオイル中の 1 つの成分が、レモンのエッセンシャルオイルと比較して高いレベルにあるように見えます。しかしながら、自動ピーク検出により、実際には 2 つの成分が共溶出していることが明らかになりました。これら 2 つの成分は明確な傾向を持っており、各成分に固有の m/zでプロットした抽出イオンクロマトグラム (XIC) で確認することができます。図 4 では TIC を 1/10 の強度で表示しており、これとともに各成分に固有の m/z でプロットした XIC (例：m/z 139.16 および 93.10) を表示しています。これにより、各成分の明確なピークが存在していること、また、これら 2 つの成分には異なる相対的な傾向が存在することがわかります。1 つの成分は両方のサンプルにあるものの、ライムのほうでより高いレベルで存在しており、もう 1 つの成分についてはライムエッセンシャルオイルでのみ観察されます。デコンボリューションによりそれぞれの成分の純粋なスペクトルも取得することができるため、図 5 に示すとおり柑橘系の香気特性を持つテトラヒドロ-2,2-ジメチル-5-(1-メチル-1-プロペニル)フラン、およびハーブ系の香気特性を持つ trans-β-オシメンを同定することができました。フランの同定は、観察されたスペクトル情報と NIST ライブラリデータベース (シミラリティスコア 849) との比較、および確認されたリテンションインデックス (1049) と NIST ライブラリ情報 (1047) との比較により行いました。テルペンの同定も、観察されたスペクトル情報と NIST ライブラリデータベース (シミラリティスコア 919) との比較、および確認されたリテンションインデックス (1049) と NIST ライブラリ情報 (1049) との比較により行いました。図 5の XICの重ね書きからは、各サンプル中のこれらの成分の相対量を確認することができます。デコンボリューションは、テルペンがレモンと比較してライムに多く含まれていることや、フランがライムのエッセンシャルオイル中にのみ存在することを明らかにするうえで非常に重要な役割を果たしました。このフランには柑橘系の香気特性があり、スイート、柑橘系、ハーブ系、グリーン、セロリ、スパイシー、ミント系、およびウッディなどと表現されます。これは、複数のエッセンシャルオイルにおいて柑橘系特性の差異を決定づける重要な成分と考えられます。デコンボリューションがなければ明確に識別することは困難でした。

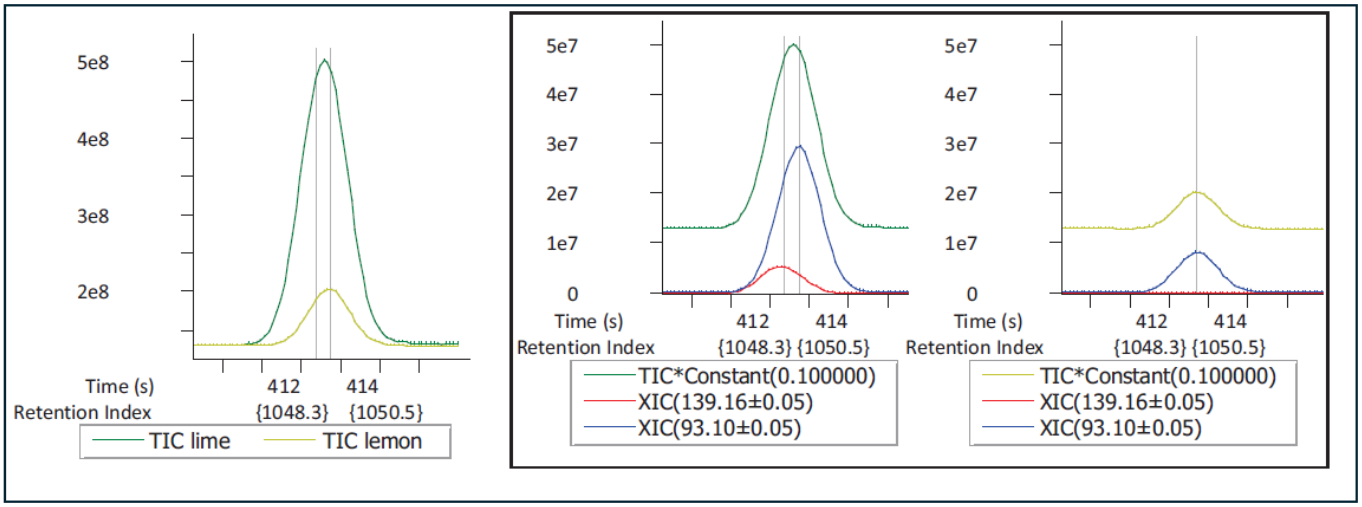


図 4：一見すると 1 つの成分のみレモンよりライムに多く含まれているように見えますが、デコンボリューションにより実際には 2 つの成分が存在していたことがわかります。1 つはレモンよりライムに多く含まれており (m/z 93.10)、もう 1 つはライムにのみ含まれています (m/z 139.16)。

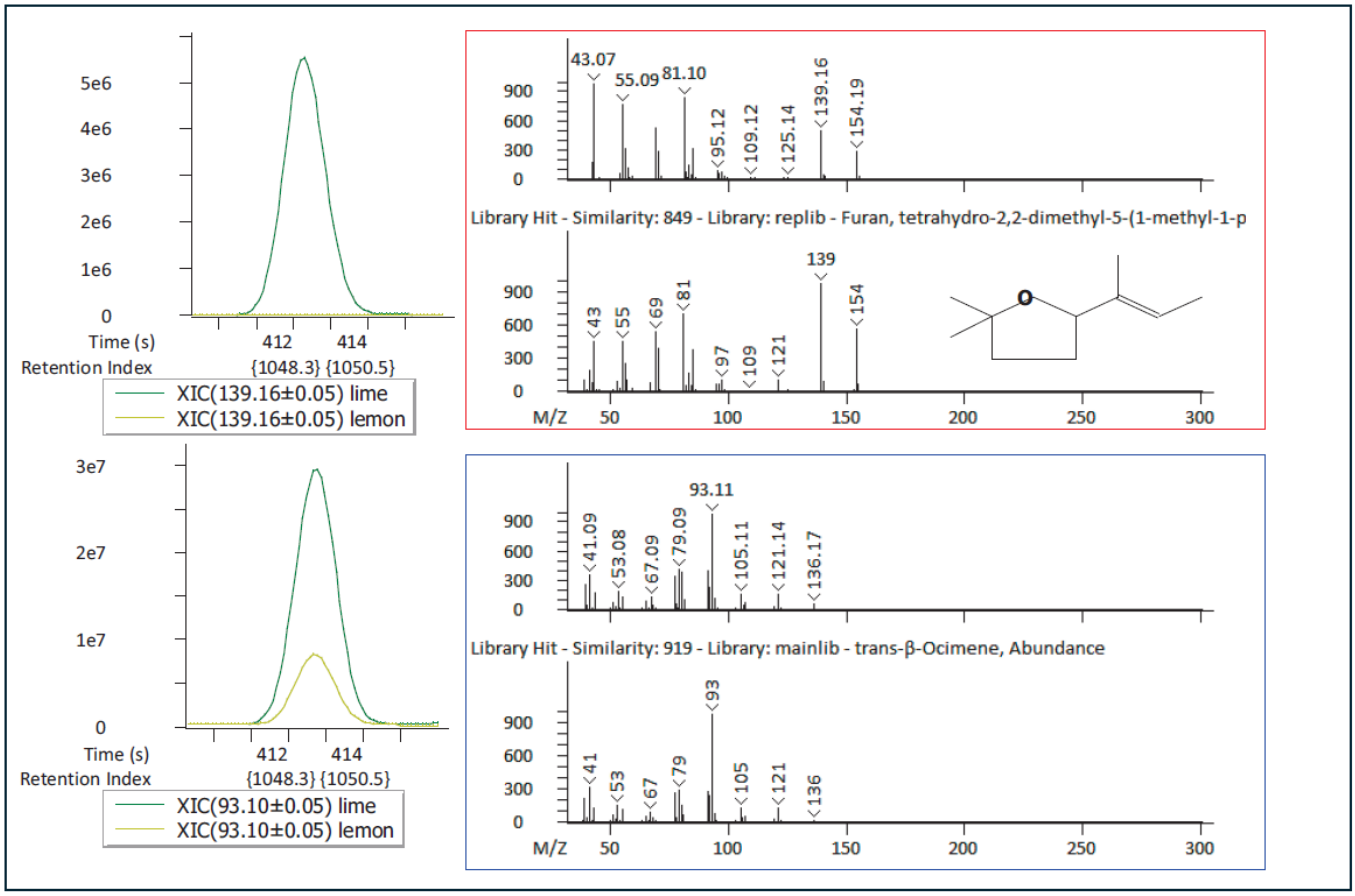
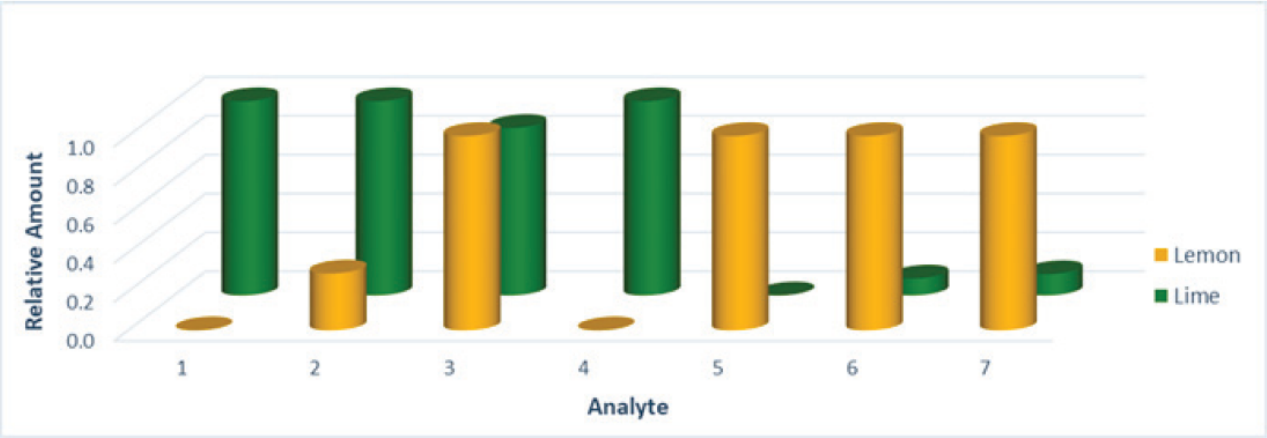


図 5：エッセンシャルオイルサンプル内で柑橘系香気特性を持つテトラヒドロ-2,2-ジメチル-5-(1-メチル-1-プロペニル)フラン、およびハーブ系の香気特性を持つ trans-β-オシメンがデコンボリューションにより分離されました。前者はライムにのみ含まれており、後者はライムでより多く含まれていることが判明しました。

柑橘系の香気は両方のエッセンシャルオイルに共通する特徴ではあるが、その特性はレモンとライムで異なっています。これは、図 2 ～ 5 で示されている成分の差異とも一致しています。この研究では、柑橘タイプの香気を持つサンプル中のその他の成分の情報をまとめることにより、柑橘系アロマについてさらに調査を行いました。この柑橘系アロマのプロファイルは、最初にこれらのサンプルで観察された成分を同定し、次に同定された成分を柑橘系アロマのタイプごとにスクリーニングすることにより決定しました。同定は、図 2 ～ 5 で既に示したとおり、ライブラリデータベースとのスペクトルマッチング、および利用可能な場合にはリテンションインデックスを使用して決定しました。同定後、データベースを使用して香気のタイプを決定しました (www.thegoodscentscompany.com)。図 6 に、柑橘タイプの香気を持つ 7 つの成分を示します。関連する表に、同定マトリクス (シミラリティスコアおよびリテンションインデックス情報) をまとめました。これには、柑橘タイプの香気特性の詳細かつ具体的な記述も含めています。各成分の相対量は棒グラフで示しており、いくつかの差異を明確に確認することができます。リモネンは両方のサンプルで同程度観察されているが、ほかのすべての成分ではレモンかライムのいずれかが高い含有量を示しています。注目すべき点として、レモンでより高い含有量を示す成分 (trans-リモネンオキシド、(Z)-シトラール、および (E)-シトラール) は、よりレモンらしい香気特性を持っています。ライムのエッセンシャルオイルでより高い含有量を示す成分 (D-リモネン、3-カレン、およびテトラヒドロ-2,2-ジメチル-5-(1-メチル-1-プロペニル)フラン)は、よりハーバル、ウッディ、およびオレンジの香気特性を持ちます。こうした柑橘系のプロファイルは、それぞれのエッセンシャルオイルの特性を理解するうえで有用です。



#	Analyte	Similarity	CAS	Formula	tR (s)	RI Obs	RI Lib	Odor Notes
1	D-limonene	838	5989-27-5	$C_{10}H_{16}$	331	960		citrus orange fresh sweet
2	3-carene	909	13466-78-9	$C_{10}H_{16}$	380	1014	1011	citrus terpenic herbal pine solvent resinous phenolic cypress medicinal woody
3	limonene	936	138-86-3	$C_{10}H_{16}$	398	1033	1030	citrus herbal terpene camphor
4	tetrahydro-2,2-dimethyl-5-(1-methyl-1-propenyl)- furan	849	7416-35-5	$C_{10}H_{18}O$	412	1049	1047	sweet citrus herbal green celery spicy minty woody
5	trans-limonene oxide	852	4959-35-7	$C_{10}H_{16}O$	498	1143	1138	fresh citrus
6	(Z)-citral	848	106-26-3	$C_{10}H_{16}O$	587	1245	1240	sweet citral lemon peel
7	(E)-citral	902	141-27-5	$C_{10}H_{16}O$	611	1274	1270	citrus lemon

図 6：レモンおよびライムのエッセンシャルオイルの柑橘系プロファイル

まとめ

この研究では、レモンおよびライムのエッセンシャルオイルに含まれる個々の成分の比較とキャラクタリゼーションにおける GC-MS の有用性を実証しました。この分析手法は、GC によるクロマトグラフィー分離と、フルスペクトルかつ安定したスペクトルが取得可能なTOFMSを組み合わせることにより、デコンボリューションアルゴリズムの最適なパフォーマンスを実現しています。このデータで発見されたいくつかの重要な差異はクロマトグラム上で共溶出により不明瞭な状態にあったため、デコンボリューションを使用しなければ見分けることは困難でした。エッセンシャルオイルに関する詳細な化学情報により、キャラクタリゼーションの情報を取得することができたうえ、柑橘系プロファイルで重要な役割を果たす種々の化学物質の特定や、2 つのエッセンシャルオイルのあいだでそれらがどのように異なっているかを理解することができました。

LECO Corporation | 3000 Lakeview Avenue | St. Joseph, MI 49085 | Phone: 800-292-6141 | 269-985-5496
info@leco.com · www.leco.com | ISO-9001:2015 Q-994 | *LECO は、LECO 社の登録商標です。*

