

msFineAnalysis IQ Ver.3 ～AI構造解析例④～ 加熱脱着-GC-QMS法によるほうじ茶葉の香気成分分析

関連製品：質量分析(MS)

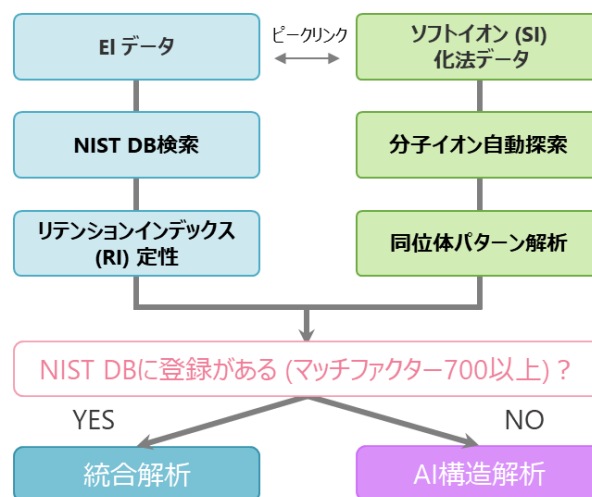
1. はじめに

ほうじ茶は焙煎に由来する豊かな香り特徴とし、多くの人々に親しまれる飲料である。近年ではその香気成分がもたらす健康への効果も期待されており、香気成分の評価に対する関心が高まっている。

香気成分の分析にはガスクロマトグラフィー質量分析 (GC-MS) が広く用いられる。本手法における成分の同定では、NISTなどの市販マスペクトルデータベース (DB) を用いるのが一般的であるが、DBに未登録の化合物が検出される場合もあり、それらは未知化合物として扱われる。

弊社では2021年、GC-QMS測定において、EI法で取得したマスペクトルのDB検索と、ソフトイオン化 (SI) 法で取得したマスペクトル中の分子イオンの解析を組み合わせ、より確度の高い定性結果を得ることができる“自動統合解析¹⁾ソフトウェア”をリリースした。しかし、本解析手法はNIST DB検索を前提としており、未知化合物の解析には依然として高いハードルがあった。そこで我々は、深層学習によるマスペクトル予測を組み込んだ構造推定²⁾手法 (以後、AI構造解析) を搭載した“msFineAnalysis IQ Ver.3”を開発した。(MSTips No.535)

今回は、加熱脱着 (TD) -GC-MS法を用いてほうじ茶の香気成分を測定し、msFineAnalysis IQ Ver.3を用いて統合解析を実施した結果を報告する。



msFineAnalysis IQ Ver.3の解析ワークフロー

2. 実験

試料には、静岡県産 (やぶきた) のほうじ茶葉を約200 mg用い、サンプルチューブに投入した。測定には、前処理装置として加熱脱着装置 (TD100-Xr, MARKES社製) を装着したGC-QMS (JMS-Q1600GC, JEOL製) を使用した。イオン化法はEI法およびSI法として光イオン化 (PI) 法を用いた。得られたデータの解析は、統合解析ソフトウェア (msFineAnalysis IQ Ver. 3, JEOL製) を用いた。表1に測定条件を示す。

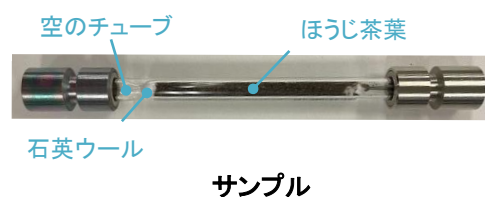


表1 測定条件

TD	TD-100xr (Markes International Ltd.)	GC	8890 GC (Agilent Technologies)
Sample tube type	Empty	Inlet temp.	250 °C
Flow path temp	250 °C	Column	DB-5MS (Agilent Technologies), 30 m x 0.25 mm, 0.25 μm
Dry(tube)-purge	1 min, 50 mL/min	Oven temp.	40 °C(1 min)-10 °C/min-300 °C(3 min)
Tube desorb	80 °C, 60 min, 50 mL/min	Column flow	2.0 mL/min (He)
Focusing trap	U-T11GPC-2S	MS	JMS-Q1600GC (JEOL Ltd.)
Trap cooling	0 °C	Interface temp.	250 °C
Trap-purge	1 min, 50 mL/min	Ion source temp.	250 °C
Trap desorb	300 °C, 5 min	Ionization	EI (70 eV, 50 μA), PI
TD split	11:1 (split flow:20 mL/min)	Scan range	m/z 19~500

この資料に掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出入管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。

3. 結果

3.1 ノンターゲット分析

図1にEI法およびPI法で取得したトータルイオンカレントクロマトグラム (TICC) を示す。主なピークとしては、メーラード反応 (焙煎) によって生成され香ばしさに寄与することが知られている2-FuranmethanolやDDMP、茶葉の青臭さに寄与する (E,E)-2,4-HeptadienalやNeophytadiene、カフェインなどが検出され、TD-GC-QMS法による、ほうじ茶葉の香気成分分析が可能であることが示された。表2に、強度比 (最も強度の高いピークを100%としたときの相対値) 10 %以上で検出された香気成分の統合解析結果を示す。

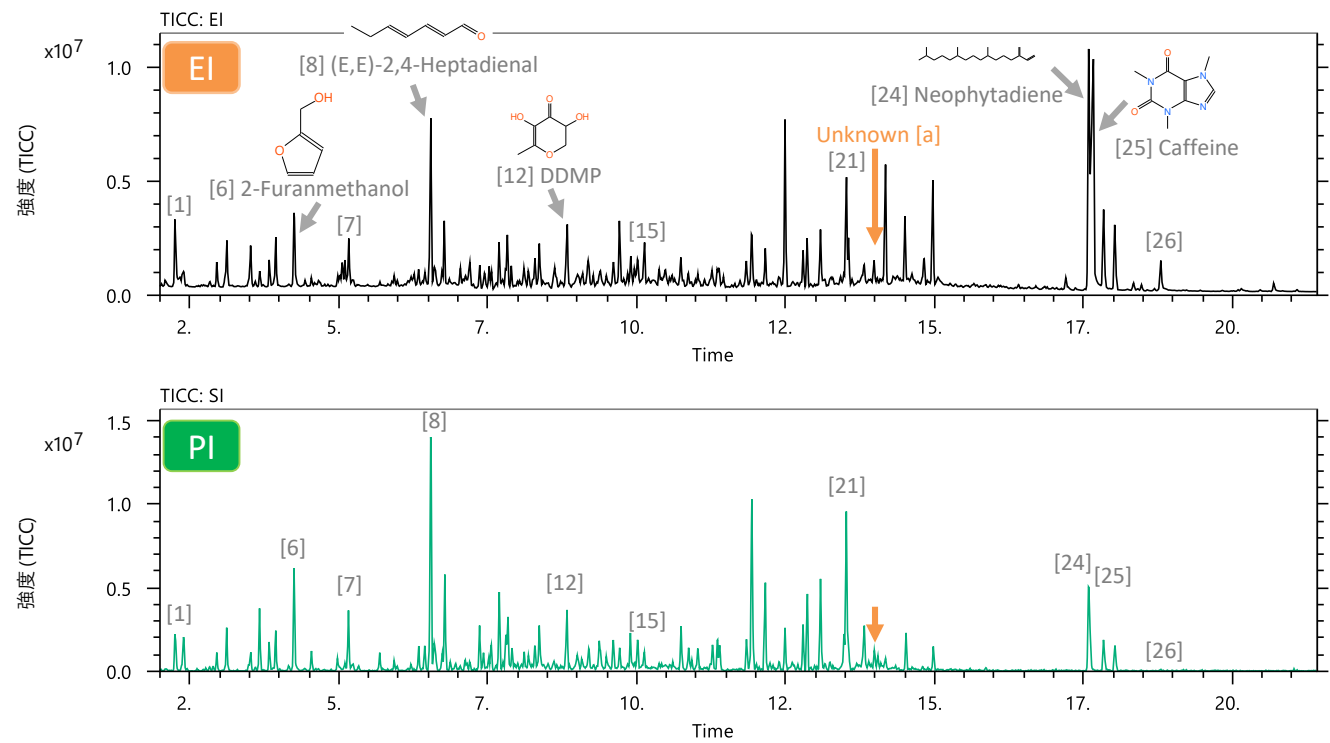


図1 ほうじ茶のEI/PI TICC

表2 ほうじ茶中の香気成分の統合解析結果 (相対強度 10%以上)

クロマトグラム情報				統合解析結果											スペクトル情報	
ID	RT [min]	実測 RI [iu]	高さ [%]	化合物名	CAS RN® / PubChem CID	マッチファクター / AIスコア	リバースマッチファクター	Lib. RI [iu]	ΔRI [iu]	組成式	分子量	分子量確認	付加/脱離	同位体マッチング	IM m/z	IMイオン化
001	2.25	675	25.19	1-Penten-3-ol	616-25-1	945	949	683	8	C5 H10 O	86	-	-	-	84	SI
002	2.95	748	9.88	2-Pentenal, (E)-	1576-87-0	949	949	753	5	C5 H8 O	84	✓	無し	0.98	84	SI
003	3.52	797	15.72	Hexanal	66-25-1	935	936	801	4	C6 H12 O	100	✓	-H2O	0.78	82	SI
004	3.83	819	10.55	Pyrazine, methyl-	109-08-0	944	944	829	10	C5 H6 N2	94	✓	無し	0.84	94	SI
005	3.94	827	19.88	Furfural	98-01-1	968	972	833	6	C5 H4 O2	96	✓	無し	0.95	96	SI
006	4.25	848	29.27	2-Furanmethanol	98-00-0	962	963	860	12	C5 H6 O2	98	✓	無し	0.99	98	SI
007	5.17	910	16.90	Pyrazine, 2,5-dimethyl-	123-32-0	925	925	916	6	C6 H8 N2	108	✓	無し	0.98	108	SI
008	6.55	995	65.43	(E,E)-2,4-Heptadienal	4313-03-5	922	930	1012	17	C7 H10 O	110	✓	無し	0.97	110	SI
009	7.37	1047	8.99	1H-Pyrrole-2-carboxaldehyde, 1-ethyl-	2167-14-8	836	842	1046	1	C7 H9 N O	123	✓	無し	0.95	123	SI
010	7.69	1068	17.35	3,5-Octadien-2-one, (E,E)-	30086-02-3	903	903	1073	5	C8 H12 O	124	✓	無し	0.88	124	SI
011	8.29	1106	9.60	Maltol	118-71-8	711	854	1110	4	C6 H6 O3	126	✓	無し	0.94	126	SI
012	8.84	1142	25.28	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	DDMP 28564-83-2	880	902	1150	8	C6 H8 O4	144	✓	無し	0.99	144	SI
013	9.61	1193	8.81	Methyl salicylate	119-36-8	840	920	1192	1	C8 H8 O3	152	✓	無し	0.96	152	SI
014	9.90	1213	8.92	4-Vinylphenol	2628-17-3	864	916	1223	10	C8 H8 O	120	✓	無し	0.97	120	SI
015	10.13	1230	15.57	1H-Pyrrole-2,5-dione, 3-ethyl-4-methyl-	20189-42-8	927	930	1239	9	C7 H9 N O2	139	✓	無し	0.93	139	SI
016	11.93	1358	20.45	1, 1, 5-Trimethyl-1, 2-dihydronaphthalene	-	960	971	375 ±66	0	C13 H16	172	✓	無し	0.92	172	SI
017	12.16	1375	14.83	4-(2,4,4-Trimethyl-cyclohexa-1,5-dienyl)-but-3-en-2-one	-	803	803	1423	48	C13 H18 O	190	✓	無し	0.93	190	SI
018	12.79	1424	12.43	α-Ionone	127-41-3	899	903	1426	2	C13 H20 O	192	✓	無し	0.96	192	SI
019	12.87	1430	18.25	4-(2,4,4-Trimethyl-cyclohexa-1,5-dienyl)-but-3-en-2-one	-	810	810	1423	7	C13 H18 O	190	✓	無し	0.90	190	SI
020	13.09	1447	21.46	5,9-Undecadien-2-one, 6,10-dimethyl-, (E)-	3796-70-1	940	948	1453	6	C13 H22 O	194	✓	無し	0.81	194	SI
021	13.52	1481	39.51	trans-β-Ionone	79-77-6	881	882	1486	5	C13 H20 O	192	✓	無し	0.64	192	SI
022	14.18	1534	47.88	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-, (R)-	17092-92-1	956	958	1532	2	C11 H16 O2	180	✓	無し	0.96	180	SI
023	14.50	1561	26.64	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E)-	40716-66-3	950	961	1564	3	C15 H26 O	222	✓	-H2O	0.72	204	SI
024	17.59	1837	83.37	Neophytadiene	504-96-1	881	893	1837	0	C20 H38	278	✓	無し	0.85	278	SI
025	17.67	1845	78.33	Caffeine	58-08-2	910	912	1837	8	C8 H10 N4 O2	194	✓	無し	1.00	194	SI
026	18.80	1956	12.04	n-Hexadecanoic acid	57-10-3	948	948	1968	12	C16 H32 O2	256	✓	無し	0.92	256	SI

この資料に掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出入管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。

3.2 未知化合物 (Unknown [a]) のAI構造解析

Unknown [a] の化合物については未知化合物であったため、AI構造解析を実施した。図2にUnknown [a] のEI法およびPI法で取得したマスペクトルを示す。PI法のマスペクトルで分子イオンと推定される m/z 180がベースピークとして検出された。これらのマスペクトルを用いた統合解析の結果、候補1位の化合物はライブラリ類似度 (マッチファクター:Max 999) が690と低く、NIST DB未登録の化合物と考えられた。そこで、AI構造解析を実施したところ、候補1位で3,4-dimethyl-5-pentylidenefuran-2-oneと推定された。本化合物はメーラード反応で生成するフラン類の一つである。本サンプル中では多くのフラン類の存在が確認されていることから、本推定結果も妥当であると考えられる。また、本化合物の炭素鎖が炭素2個短い構造である3,4-dimethyl-5-propylidenefuran-2-oneは、昆布だしの香気成分としてコクのある甘い香りを有すると報告されており³⁾、本化合物も同様の香りを有すると考えられる。

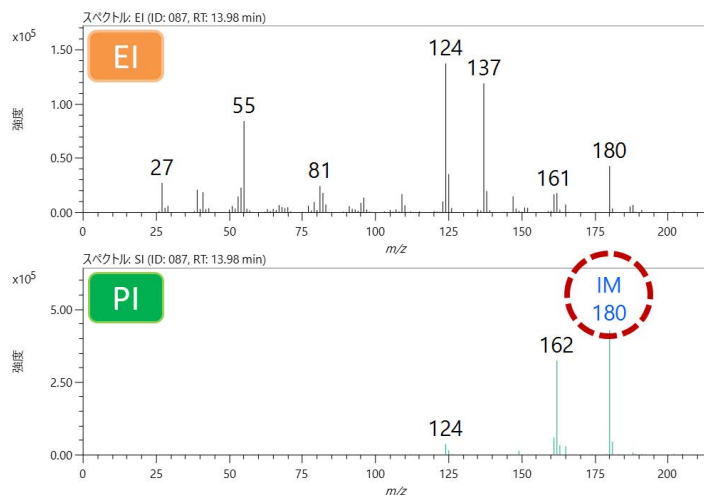


図2 未知成分[a]のEI/PIマスペクトル

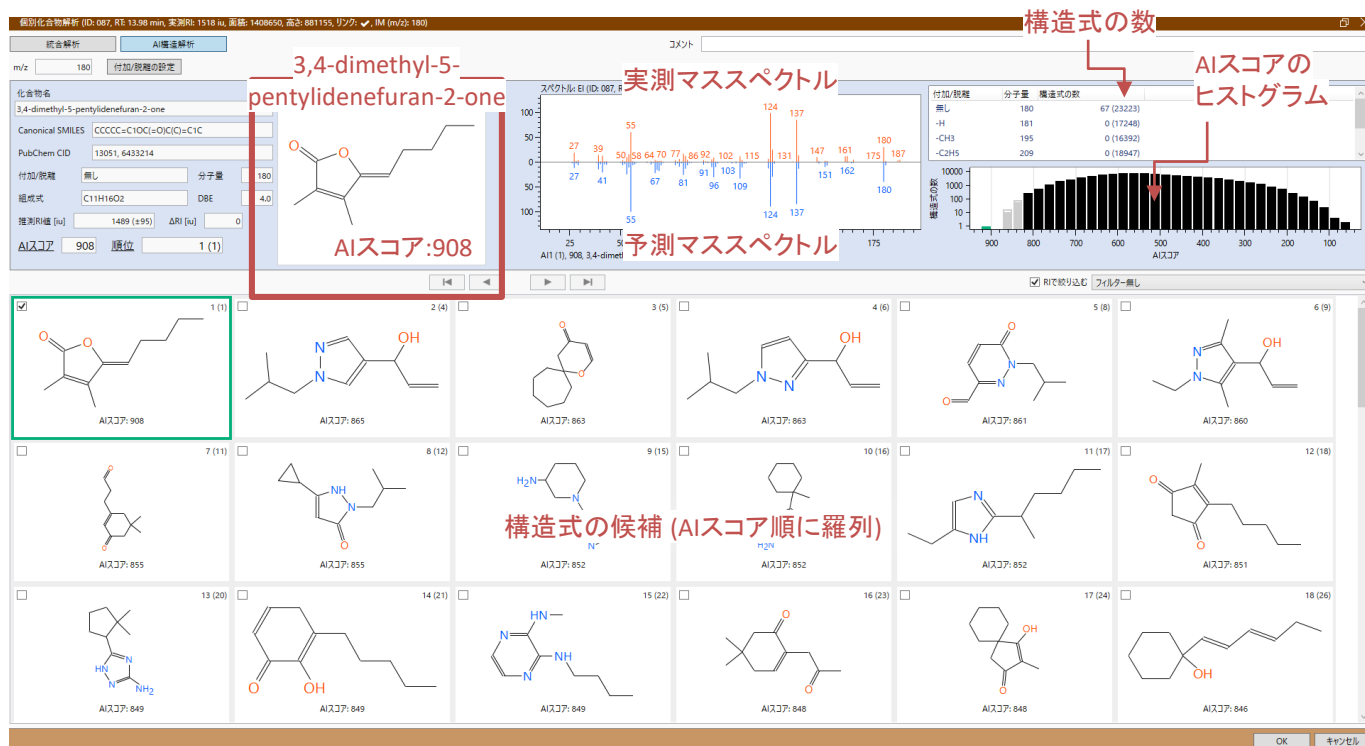


図3 未知成分[a]のAI構造解析結果

4. 結論

本MSTipsでは、ほうじ茶の香気成分について、加熱脱着 (TD) - GC-QMSで測定し、msFineAnalysis IQ Ver. 3で解析した。その結果、メーラード反応(焙煎)によって生成され香ばしさに寄与するフラン類やピラジン類に加え、カフェインなどが確認された。また、NIST DBに未登録の化合物についても、AI構造解析により、構造を推定することが可能であった。以上の結果から、GC-QMSとmsFineAnalysis IQ Ver. 3を用いた解析が、食品の香りの網羅的な解析に有効であることが示された。

参考文献

- 1) M. Ubukata et al, *Rapid Commun Mass Spectrom.*, 2020, 34, e8820.
- 2) A. Kubo et al, *Mass Spectrom.*, **2023**, 12, A0120.
- 3) Tomita, N. et al., "Key Aroma Compounds of Kombu Dashi," *Proceedings of the 61st Symposium on the Chemistry of Flavor, Terpenes and Essential Oils*, Ishikawa, Japan, 2017.

この資料に掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出入管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。