

Agilent Mass Profiler ソフトウェア による緑茶およびウイスキーの GC/MS データ解析の簡便化



Authors

中村 貞夫

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

ウイスキー銘柄及び緑茶（異臭成分添加・無添加）の比較に Agilent Mass Profiler を用いました。どちらのケースもクロマトグラムが複雑で個々のピークを確認するには労力を要し、特に緑茶ではサンプル間でクロマトグラム上差異が確認できないケースでした。Mass Profiler ソフトウェアを用いることにより、サンプル間で有意差がある化合物を簡単に抽出することができました。ウイスキーにおいてはサンプル間の違いを視覚的に解析できました。緑茶では異臭成分を添加してもクロマトグラム上、正常サンプルとの差異を判別することはできませんでしたが、それらの成分の検出ができました。

Key word : Mass Profiler、ウイスキー、緑茶、異臭、統計解析、主成分分析

1.はじめに

正常品・クレーム品、自社製品・他社製品などの比較をGC/MSで行うとき、クロマトグラムが複雑で個々のピークを解析するには労力を要する、あるいはサンプル間で差異が確認できないことがあります。

アジレントのMassHunterソフトウェアはクロマトグラフデコンボリューションあるいはMolecular Feature Extraction (MFE) などのピーク抽出機能により、僅かな溶出時間の差などからコンポーネント（化合物ピーク）抽出を行い、夾雑物によるマススペクトルへの影響を排除し、ライブラリ検索の精度を高めることが可能です。また、Agilent Mass Profilerは、サンプル間で、差異のあるピークを自動で探し出し、統計解析を行うことが可能なソフトウェアです。

Mass Profilerは主成分分析などの機能で2つのサンプル間での統計的有意差がある化合物をリストアップすることができます。本アプリケーションノートでは、Mass Profilerで、ウイスキー銘柄及び緑茶（異臭成分添加・無添加）の比較を行い、有意差がある化合物を視覚化することで容易に探し出すことができましたので、報告します。

2.測定条件

ウイスキー

（スターバー抽出）

サンプル量:1 ml（水で5倍希釈）/10mlバイアル
Sequential：1時間+1時間（塩析30%）

（GC/MS）

カラム: HP-INNOWax 30 m,0.25 mm,0.25 μm
オープン温度:40°C(2 min)-3°C/min-240°C(11.333 min)

緑茶

（SPME）

ファイバー：DVB/Carboxen/PDMS（2 cm）

加熱:60°C 30 min

サンプル量:10 ml（塩化ナトリウム3 g）/20 mlバイアル

（GC/MS）

カラム: HP-5ms 30 m,0.25 mm,0.25 μm
オープン温度:40°C(3 min)-10°C/min-280°C(5 min)

注入モード:スプリットレス、2 min

注入温度:270°C

カラム流量:1.2 ml/min

3.Mass Profiler の解析ワークフロー

Mass Profilerは、2つのサンプル間の関係を比較・要約し、さらにその特徴を視覚化したうえで、統計的な処理をすることにより、客観性のある結果を簡単に導き出すことができます。その解析ワークフローは、①GC/MSデータファイルを直接読み込みます（あるいは、Mass Hunter Unknowns Analysisを用いて、デコンボリューションした結果ファイル（.cef）を読み込みます）。図1に、データ読み込みの画面を示しました。②Feature Finding → Peak Alignment → Statistics Analysisにより、データを処理し、サンプル間で、有意差がある化合物をリストアップします。図2にそのパラメータ設定画面を示しました。③図3に示すように、ID Browserにより有意差のある化合物をライブラリ検索します。①から③により、サンプル間で、有意差のある化合物を抽出し、定性を行うことができます。さらに、これらのデータについて、視覚的に解析を進めることができ、「結果及び考察」のウイスキー銘柄比較にて、解説します。

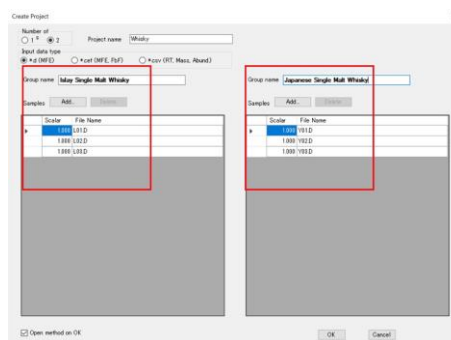


図1 データファイルの読み込み画面

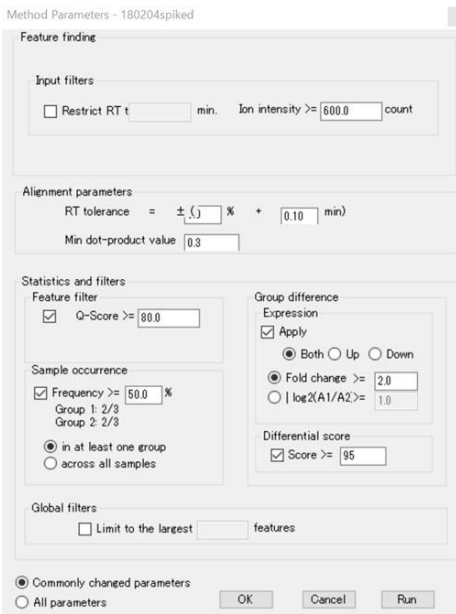


図2 パラメータ設定画面

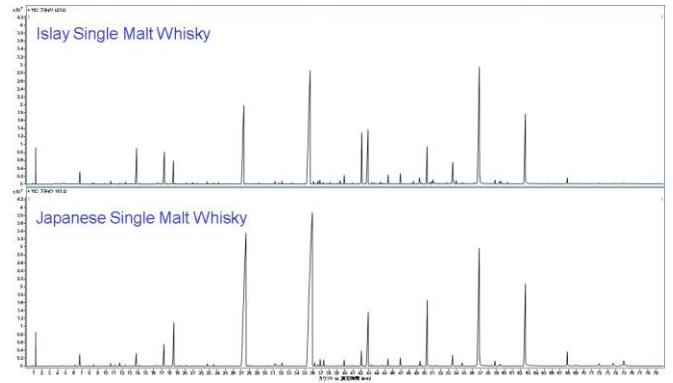


図4 シングルモルトウイスキー2種 (Japanese、Islay) のTIC

図5は、シングルモルトウイスキー2種 (Japanese、Islay) において、統計的有意差 (Differential Score \geq 95) がある化合物をプロットしています。中央のラインより右下がJapanese Single Malt Whiskyに特徴的な化合物がプロットで表示されています。脂肪酸エチルエステル類 (ウイスキーの香味成分) 等が確認できました。左上はIslay Single Malt Whiskyに特徴的な化合物でフェノール類等がプロットされました (ウイスキーのスモーキーさはフェノール値 (ppm) で表記される)。

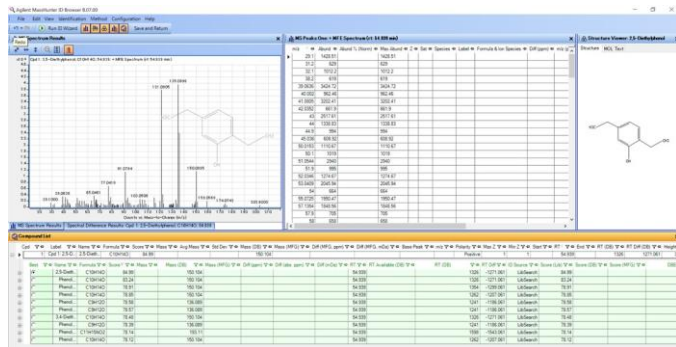


図3 ID Browserによるライブラリ検索結果

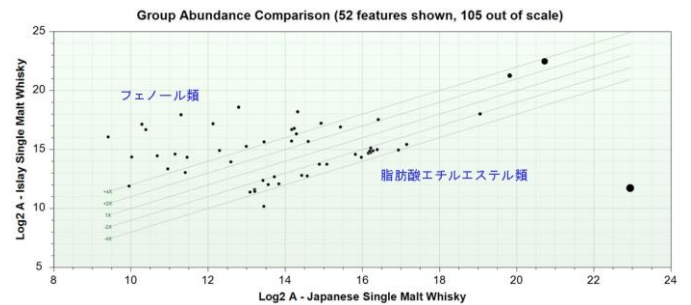


図5 サンプル間で有意差がある化合物

4. 結果及び考察

ウイスキー銘柄比較

図4に、シングルモルトウイスキー2種 (Japanese、Islay (アイラ)) のトータルイオンカレントクロマトグラム (TIC) を示しました。数多くのピークが検出され、マニュアル解析では時間を要することが予想できます。Mass Profilerにより、サンプル間で有意差がある化合物を自動で探し出すことが可能です。そして、各サンプルを特徴付ける化合物を視覚的に解析していきます。

図6は、化合物の詳細情報を示しています。図の上部にある表は、統計的有意差が認められた157化合物のリストです。クロマトグラムおよびマススペクトルは2,5-ジエチルフェノール (ID#58) の情報を示し、Islay Single Malt Whiskyに特徴的なことが分かります。その左表にアバダンス値が表示されます。

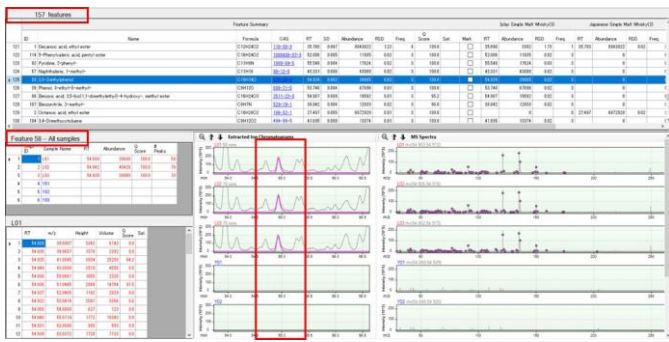


図6 化合物の詳細情報

図7は、有意差がある157化合物の検出頻度を示しています。Islay Single Malt Whiskyでは、3回の繰り返し測定においてほとんどの化合物が毎回検出されています。一方、Japanese Single Malt Whiskyでは、その3回の測定において検出されていない化合物が多数を占める結果になっています。Islay Single Malt Whiskyは、独特の化合物を多く含むウィスキーであると言えます。

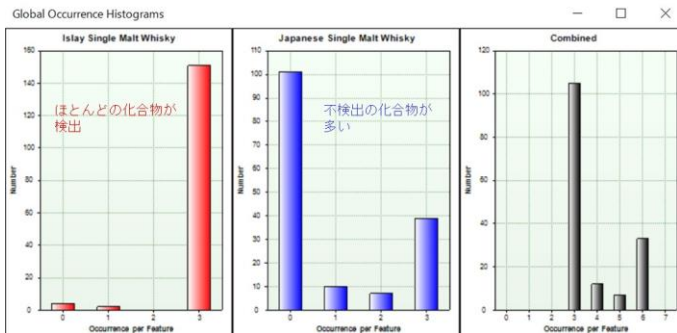


図7 有意差がある157化合物の検出頻度

図8は、主成分分析 (PCA) の結果を示します。左下の図は主成分スコアプロットで、第1主成分 (寄与率93.68%、左上表) で、この2つのサンプル間の違いがほぼ説明できることがわかります。右下の図は、C-Cプロットを示します。(C-Cプロットは主成分分析から得られる結果の covariance (共分散) と correlation (相関) を散布図で表記したものです。このプロットでは各化合物の違いの度合いと相関を視覚化します。) 右上コーナーに近いほどIslay Single Malt Whiskyに特徴的な化合物で、左下コーナーに近いほどJapanese Single Malt Whiskyに特徴的な化合物を示します。Islay Single Malt Whiskyは特徴づける化合物がより多いことがわかります。

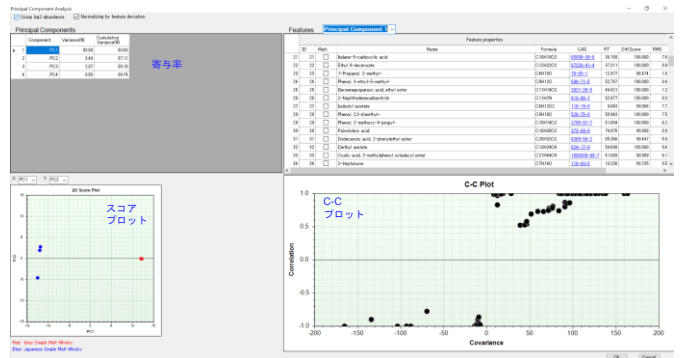


図8 主成分分析 (PCA) の結果

緑茶 (異臭成分添加・無添加) の比較

図9に、緑茶 (異臭成分添加・無添加) のTICCを示しました。緑茶由来の香気成分のピークが数多く検出され、クロマトグラム上では差異が確認できない状況で、異臭成分をマニュアル解析で探し出すのは困難です。そこで、Mass Profilerを用い、各サンプルをn=5で測定したデータから、サンプル間においてピーク面積値の平均値に統計的有意差のある化合物を抽出しました。

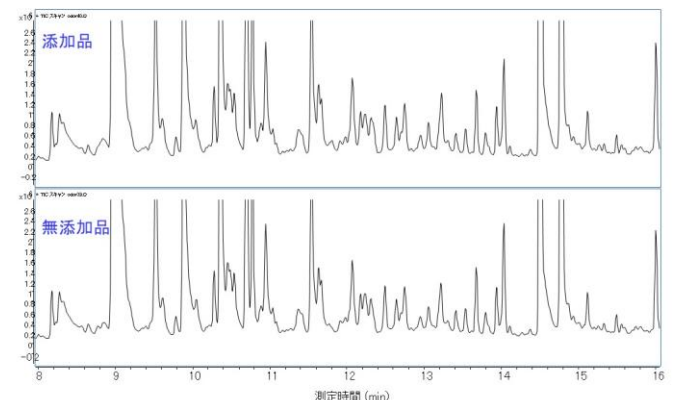


図9 緑茶 (異臭成分添加・無添加) のTICC

表1に、その結果を示しました。添加した異臭成分であるの2-クロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール、2,4,6-トリクロロアニソール、ジェオスミンの検出が可能でした (添加濃度はクロロフェノール類が1 ppb、2,4,6-トリクロロアニソール、ジェオスミンが10 ppt)。このように、TICC上では、差がない場合でも、MassProfilerでは、Feature Findingによる化合物検出が行えます。また複数回の測定を行えば、サンプル間で統計的な検定によって統計的有意差がある化合物を簡単に抽出することが可能です。

表1 緑茶（異臭成分添加・無添加）において有意差がある化合物

ID	Name	Formula	CAS	RT
51				5.957
43				7.912
17	2-Chlorophenol (Chemical, Hospital)	C6H5ClO	95-57-8	8.814
20				9.073
31	Isobornylacetic acid (Fruit)	C12H20O2	125-12-2	9.394
7	2,4-Hexadienal_1 (Green, Citrus, Pungent, Oil, Cinnamon)	C8H8O	142-83-6	10.281
35				10.440
11				10.902
47				11.104
41				11.168
48				11.730
19	2,4-Dichlorophenol (Chemical, Hospital)	C6H4Cl2O	120-83-2	11.811
30				11.849
32				12.202
16	2,6-Dichlorophenol (Chemical, Hospital)	C6H4Cl2O	87-65-0	12.352
18				12.431
13				12.961
9	Geraniol (Fruit, Rose)	C10H18O	106-24-1	13.062
44				13.378
42				13.945
40	2,4,6-Trichloroanisole (Mold, Cellar)	C7H5Cl3O	87-40-1	14.203
46				14.967
23	Geosmin (Mold, Soil)	C12H22O	19700-21-1	15.274
50				15.406
38				15.439

5.まとめ

Mass Profilerソフトウェアを用いることにより、サンプル間で有意差がある化合物を簡単に抽出することができました。サンプル間の違いを視覚的に解析したり、また、TICC上サンプル間で差異を判別できないケースにも有用でした。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Printed in Japan, October 22, 2018

GC-MS-201810NK-001

