

SPME-GC/MS を用いた劣化天然ゴムの臭気成分の 2 群間比較解析



Authors

加賀美智史
穂坂明彦
野原健太

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

近年、材料や化成品業界において、製品からの異臭が原因となるトラブルが、解決すべき喫緊の課題と捉えられ、その対策として臭気の原因となる化合物を迅速かつ正確に絞り込むことが要求されています。GC/MS による定性分析で一般的に用いられる NIST MS ライブラリでは、あらゆる臭気成分がカバーされている訳ではないため、その解析結果から成分を絞り込むのはかなり困難です。アジレントの「GC/MS 用異臭分析データベース」は臭気化合物に特化して収載した MS スペクトルライブラリです。本アプリケーションノートでは劣化した天然ゴムを試料として、複雑なマトリックス中においても高感度に化合物の検出が可能な SPME - GC/MS と上記データベースを用いた異臭原因化合物の絞り込みを目的とし検討を行いました。また 2 群間比較解析ソフトウェアである Mass Profiler (MP) による統計解析を組み合わせることで、迅速かつ再現性に優れた臭気原因化合物の絞り込みが可能でした。

Key word : SPME、材料、異臭、劣化解析、MP、主成分分析

はじめに

近年、オフフレーバー(異臭)が原因となるトラブルは材料や化成品においても解決すべき問題であり、異臭問題が発生した際には迅速かつ正確に臭気物質を特定することが重要です。臭気成分の分析には、高感度かつ簡便な前処理法である固相マイクロ抽出法 (Solid Phase Micro Extraction ; SPME) と高い分離能力と定性能力を持つガスクロマトグラフ質量分析計 (GC/MS) を組み合わせたSPME - GC/MSが広く用いられています。測定で得られた各ピークの定性には、NISTやWileyなどの市販のライブラリ検索により行われるのが一般的ですが、目的とする臭気成分以外の化合物も多く、迅速かつ正確に絞り込むことは重要な課題です。アジレントでは臭気物質に特化したマススペクトルライブラリ「GC/MS用異臭分析データベース」を無償提供しています。このデータベースは約500種類の臭気物質の基本情報 (マススペクトル、CAS No.)の他に、「においの種類」など、臭気分析において重要な情報も掲載しています。

天然ゴム (NR) は多岐にわたる用途で使用されますが、天然由来の化合物を多く含み、独特な臭気を持つことが知られています。異臭のトラブルでは化成品が持つ臭気や劣化で生じる臭気の移り香が原因となる場合もあり、劣化による臭気の変化を検出できる分析法ならびに解析方法を確立することは重要です。そこで本アプリケーションノートでは、天然ゴムの正常品と劣化品を試料とし、SPME-GC/MSで得られたクロマトグラムをGC/MS用異臭分析データベース、および2群間比較解析ソフトウェアであるMass Profiler (MP)を用いて、劣化した天然ゴムの臭気成分の解析を行った例を紹介します。

分析条件

バイアルに入れたNR (WAKI, GB896 #180)をNRの耐熱温度(120°C)で24時間加熱を行ったサンプルを劣化試料 (●)、加熱していない試料をコントロール(○)としました。サンプルはSPMEによる抽出を行いGC/MSによる測定を行いました。測定には多機能オートサンプラ (MPS2、ゲステル社製)付きのGC/MS(5977B MSD、アジレント社製)を用いました。SPMEファイバーは分子量が小さい化合物も効率よく捕集できる三相タイプ(PDMS/DVB/Carboxen 2cm、SPELCO社製)を用いました。各試料約1 gをバイアルに採取し、60°Cで10分間の予備加熱・攪拌、60°Cで20分間SPMEで揮発成分を抽出しました。データ解析はマススペクトルライブラリにNIST2017および上述の異臭ライブラリを用い、比較解析にはMass Profiler (アジレント社製)を用いました。

GERSTEL MPS2 (多機能オートサンプラ)
 注入モード 固相マイクロ抽出 (SPME)
 SPMEファイバー PDMS/DVB/Carboxen (50/30 μm)
 サンプル抽出条件 60°C / 20分 (攪拌あり)
 サンプル脱着時間 8分

Agilent 7890B GC
 注入口 スプリット/スプリットレス
 注入モード スプリットレス
 (ページ100 mL/min, 注入後2分)
 注入口温度 250°C
 ガスセーバ オン (20 mL/min, 注入後)
 ライナー Ultra Inert Liner (straight, 0.75 mm)
 (p/n 5190-4048)
 キャリアガス He (低流量モード 1.1077mL/min)
 (ベンゾチアゾールを17.967分でリテンションタイムロック)
 カラム DB-WAX UI (p/n 122-7032UI)
 30 m, 0.250 mm, 0.25μm
 オープン 40°C (3 min)-10°C/min-250°C(10 min)

Agilent 5977B MSD InertPlus (四重極型質量分析計)
 イオン化法 電子イオン化法 (EI)
 イオン源 エクストラクタイオン源
 トランスファーライン 230°C
 イオン源温度 250°C
 四重極温度 150°C
 電子エネルギー 70eV
 測定モード Scan (Scan range ; m/z 29 - 550)
 ゲイン係数 1

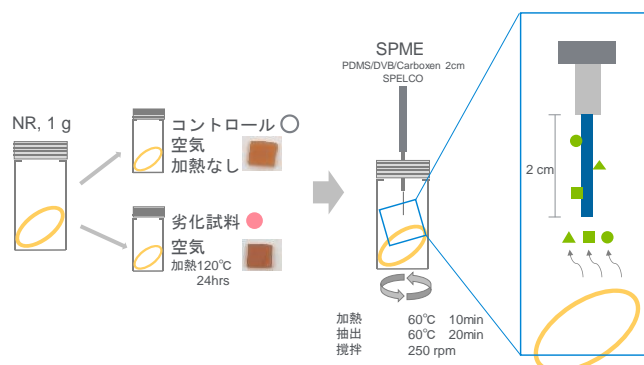
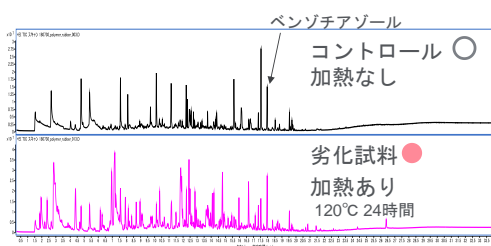


図1 NRの熱劣化条件とSPMEによる揮発性成分の濃縮

結果および考察

コントロールと劣化試料から得られたトータルイオンカレントクロマトグラム(TICC)を図2に示しました。まずコントロールに関してNIST2017ライブラリを用いて自動検索を行ったところ1,647成分が定性されましたが、これらの中から臭気の原因となる化合物を特定することは困難でした。これに対しn-アルカン (C4-20) から算出したリテンションインデックス (RI) を用いたGC/MS用異臭分析データベースによる検索では、「ゴム臭」として登録されているベンゾチアゾールなど、臭気物質であることが確認されている133成分が定性され、原因物質の絞り込みが可能でした。

a コントロールと劣化試料のクロマトグラム



b ベンゾチアゾールのスペクトル

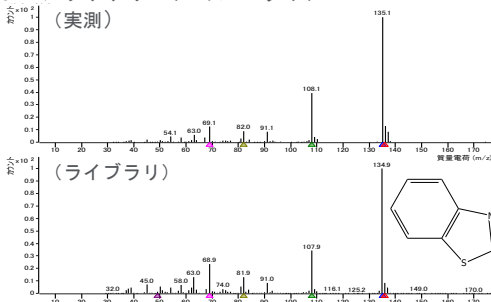


図2 (a)各試料から得られたクロマトグラムと (b)ベンゾチアゾールのスペクトル比較

検出された化合物について、コントロールと劣化試料の比較解析をMP (Mass Profiler)を用いて行いました。この解析では、どちらか種類の試料(n=4)で検出され、Student-t検定に基づくDifferential Scoreが95以上(有意水準 $p < 0.05$)が認められた化合物を対象としました。これらの化合物について2群間における化合物アバUNDANCEの比較を行った結果を図3に示しました。劣化試料において複数の化合物でレスポンスの増加が認められました。このようMPを用いることで、どの化合物がどのサンプルで増加しているかを視覚的にとらえることが容易になります。

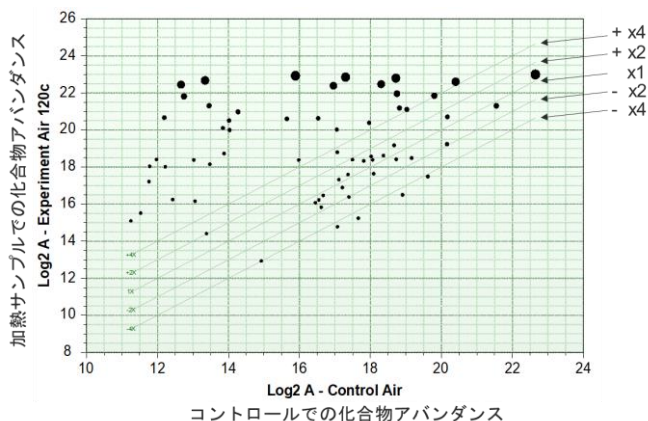


図3 Mass Profilerによる各化合物のアバUNDANCE比較

次に主成分分析(PCA分析)を行い、スコアによる判別を行った結果を図4に示しました。第一主成分(寄与率 86.3%)で2つのサンプルの違い(加熱の有無)を説明できると考えられました。

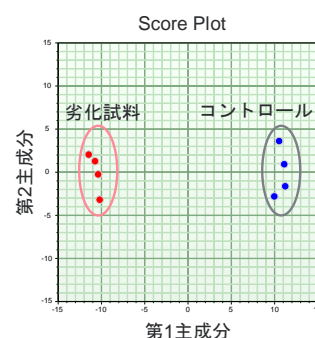


図4 主成分分析のスコアによるサンプル判別(右図)

PCA分析の結果について、covariance (共分散)と correlation (相関)を散点図で表記したC-Cプロットを図5に示しました。C-Cプロットの右上は加熱してないコントロールに特徴的な化合物が、左下は加熱した劣化試料に特徴的な化合物が示されています。

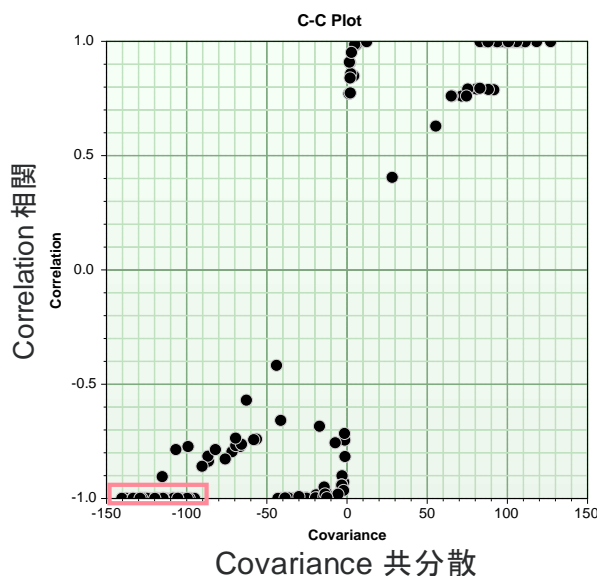


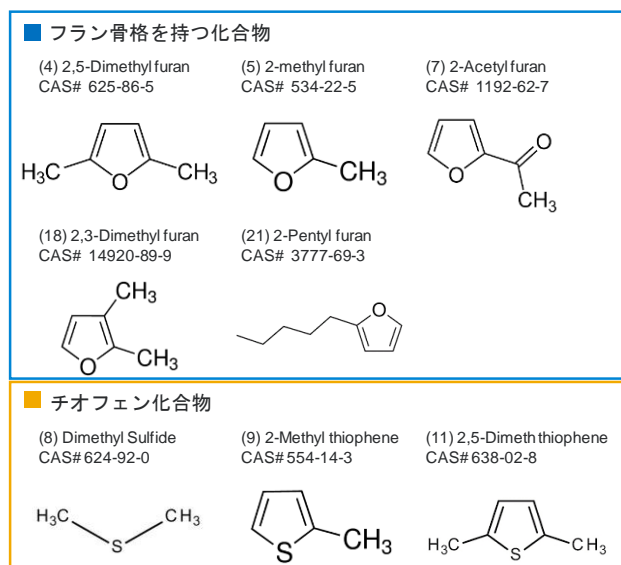
図5 PCA分析に基づくC-Cプロット

図5においてピンクの枠で囲った劣化試料に特徴的な25化合物を表1に示しました。この中でフラン骨格を持つ化合物が5種類、チオフェン系の化合物が3種類認められ、それぞれの化合物の構造を図6に示しました。フラン骨格を持つ化合物は糖の熱分解で生じることから、天然ゴムに含まれる植物由来成分であると考えられました。チオフェン系の化合物は、ゴムの機械的強度を高める加硫による架橋構造が熱処理によって切断され、生成されたと考えられました。

表1 加熱したサンプルに特徴的な臭気を持つ化合物

No	Compound Name	RT	Loading	Correlation
1	2-Methyl-2-pentenal (Pungent, Fermentation)	9.756	-0.093	-1.00
2	2-Methyl isoborneol (Mold, Unrefined)	11.496	-0.093	-1.00
3	Acetyl acetone / 1,2-Dimethyl ethane / 2,5-Hexandione	14.637	-0.093	-1.00
4	2,5-Dimethyl furan (Solvent)	3.958	-0.093	-1.00
5	2-Methyl furan (Solvent, Thinner)	3.124	-0.093	-1.00
6	Cyclohexyl acetate (Sweet, Solvent)	7.835	-0.093	-1.00
7	2-Acetyl furan (Solvent)	5.307	-0.093	-1.00
8	Mono-/Di-/Trimethyl sulfide (Rotten vegetable)	5.971	-0.093	-1.00
9	2-Methyl thiophene (Burnt rubber, Gasoline)	6.765	-0.093	-1.00
10	n-Valeraldehyde (Armond, Bitter, Cheese, Musty)	3.418	-0.093	-1.00
11	2,5-Dimethyl thiophene (Solvent, Sulfur)	8.009	-0.093	-1.00
12	2-Methoxy-4-vinylphenol / 4-Vinylguaiacol (Phenol,	18.412	-0.093	-1.00
13	6-Methyl-5-heptene-2-one (Fruit, Fresh)	10.352	-0.093	-1.00
14	Guaiacol / 2-Methoxy phenol (Herbal, Burnt)	13.798	-0.093	-1.00
15	o-Xylene (Sweet)	7.634	-0.093	-1.00
16	n-Butyl benzene (Gasoline, Solvent)	9.968	-0.093	-1.00
17	Isobornylacetic acid (Fruit)	21.739	-0.093	-1.00
18	2,3-Dimethyl furan (Solvent)	4.172	-0.093	-1.00
19	Citronellal (Citrus, Oil, Fat)	9.911	-0.093	-1.00
20	Benzyl alcohol (Solvent)	7.894	-0.093	-1.00
21	2-Pentylfuran / 2-Amylfuran (Fruit, Sweet)	8.717	-0.093	-1.00
22	4-Vinyl phenol (Solvent, Paint)	14.191	-0.093	-1.00
23	trans,trans-2,4-Decadieneal (Oil, Fat, French fry)	16.31	-0.093	-1.00
24	Triethyl amine (Fish, Ammonia)	11.905	-0.093	-1.00
25	Guaiacol / 2-Methoxy phenol (Herbal, Burnt)	14.077	-0.093	-1.00

■ フラン骨格を持つ化合物 ■ チオフェン化合物



() 内の数字は表1のNoに対応

図6 劣化試料に特徴的な化合物の構造

まとめ

本アプリケーションノートでは正常品と劣化品の天然ゴムを試料として、SPME-GC/MSによる試料測定、「GC/MS用異臭分析データベース」と2群間比較解析ソフトウェアであるMPによる解析を組み合わせた異臭原因化合物の絞り込みを試みました。

まず正常品から得られたクロマトグラムで、上記データベースを用いた化合物検索を行った結果、「ゴム臭」として登録されているベンゾチアゾールなど、臭気物質であることが確認されている成分がヒットしていました。本データベースに収載されている「にの種類の種類」は、臭気原因化合物の絞り込みにおいて有効な情報であると言えます。続いて正常品と劣化品でデータベース検索を行い、ヒットした成分について、MPを用いた統計解析を行いました。主成分分析では、第1主成分で試料の加熱の有無を判別することができました。さらにそれらの化合物でC-C plotを作成し、劣化試料に特徴的な化合物に着目した結果、糖の熱分解で生成する成分や、製造過程に用いられる加硫剤を起因とした成分など、特徴的な臭気を持つ化合物を絞り込むことができました。

Information

「GC/MS用異臭分析データベース」は以下のリンクから弊社GC/MSユーザー様のみ、無償でダウンロードいただけます。

<https://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1004528>

詳しくはお問い合わせください。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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. 2019

Printed in Japan, October 30, 2019

GC-MS-201910KG-001

