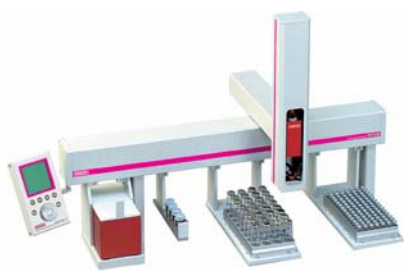


異臭分析における SPME-GC/MS 及び多変量解析技術の活用



＜要旨＞ ミネラルウォーターの異臭分析に、前処理として固相マイクロ抽出 (SPME) を用い、GC/MS で測定を行った後、多変量解析ソフトウェア (Mass Profiler Professional) による解析を行いました。異臭成分添加品及び無添加品の 2 群比較を行い、Volcano Plot により統計的有意差のある成分を 26 に絞り込むことができました。クロマトグラムの比較では確認が難しい成分についても抽出が可能で、本法は異臭の原因となる物質の特定に有用でした。

Key Words: ミネラルウォーター、異臭分析、固相マイクロ抽出 (SPME)、GC/MS、多変量解析、Mass Profiler Professional (MPP)

1. はじめに

近年、食品の安全性に対する社会的な関心が高まっています。食品における異臭苦情は数も多く、迅速な対応が要求されます。食品の異臭は、腐敗臭、硫黄臭、カビ臭、消毒臭、溶剤臭等に代表されますが、その原因の特定を官能試験のみで行うには、難しいことが多々あります。一般に、異臭分析には GC/MS 法が用いられており、異臭品と正常品のクロマトグラムを比較して、その成分を特定しますが、微小ピークの場合はそれが困難なことがあります。一方、多変量解析は、食品の香気分析の一つの解析手法として、主成分分析、因子分析、クラスター分析などにより、銘柄や産地判定などの識別に適用されています。本アプリケーションノートでは、食品の異臭分析に固相マイクロ抽出 (SPME) - GC/MS 及び多変量解析技術を適用しました。微小ピークについて良好な結果が得られましたので報告します。

2. 測定条件

装置: Gerstel 社 MPS2 多機能オートサンプラ + Agilent 社 7890A GC/5975C TAD MSD
多変量解析ソフトウェア: Agilent 社 Mass Profiler Professional (SPME)
ファイバー: Sigma-Aldrich 社 DVB/Carboxen/PDMS (2cm)
試料 : 10ml (塩化ナトリウム 3g: 塩析) / 20ml バイアル
加熱温度 : 60℃
抽出時間 : 30 分間 (GC)
注入法 : スプリットレス、2min
注入口温度: 270℃
カラム : HP-5ms 30m, 0.25mm, 0.25 μm
オープン温度: 40℃ (3min) - 10℃/min - 280℃ (5min)

カラム流量 : 1.2ml/min (コンスタントフローモード) (MS)
トランスファーライン温度: 280℃
イオン化モード: EI, 電子エネルギー: 70eV
イオン源温度 : 230℃
測定モード : スキャン (m/z 29-400)

3. 結果

Table 1 に検討を行った異臭成分の WHO ガイドラインあるいは嗅覚閾値を示しました。添加濃度は、カビ臭成分の 2-Methylisoborneol、Geosmin、2,4,6-Trichloroanisole は 10ppt、クロロフェノール類の 2-Chlorophenol、4-Chlorophenol、2,4-Dichlorophenol、2,6-Dichlorophenol、2,4,6-Trichlorophenol は 1ppb としました。

Table 1 検討を行った異臭成分

#	化合物名	WHOガイドライン(*) あるいは嗅覚閾値	添加濃度
1	2-Chlorophenol	0.1-10ppb *	1ppb
2	2,4-Dichlorophenol	0.3-40ppb *	1ppb
3	2-Methylisoborneol (MIB)	5-10ppt	10ppt
4	4-Chlorophenol	250ppb **	1ppb
5	2,6-Dichlorophenol	3ppb **	1ppb
6	2,4,6-Trichloroanisole (TCA)	0.1-2ppt	10ppt
7	2,4,6-Trichlorophenol	2-300ppb *	1ppb
8	Geosmin	1-10ppt	10ppt

** 出典: 「Advances in Taste-&Odor Treatment & Control」, Amer Water Works Assn (1995)

市販のミネラルウォーターを試料とし、異臭成分添加品及び無添加品をそれぞれ、n=3 で測定を行いました。Fig. 1 に、それぞれのトータルイオンクロマトグラム (TIC) を示しました。クロマトグラムの比較により容易に確認できた成分は、8 成分中 2 成分 (2-Chlorophenol、2,4-Dichlorophenol) でした。



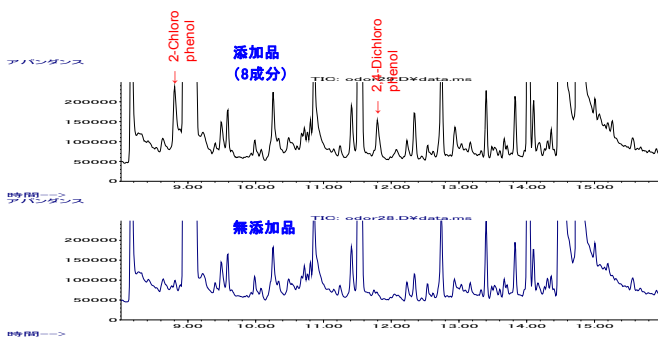


Fig. 1 異臭成分添加ミネラルウォーター及び無添加品の TIC

次に、多変量解析ソフトウェア (Mass Profiler Professional) を用いて、この2つの試料間における統計的に有意差のある化合物 (ピーク面積) の抽出を行いました。まず、NIST AMDIS のデコンボリューションにより、コンポーネントの検出を行い、その結果を Mass Profiler Professional で読み込みました。ピークアライメント後、1528 の Entity (化合物) が検出されました。Fig. 2 に、RT vs Mass Plot を示しました。

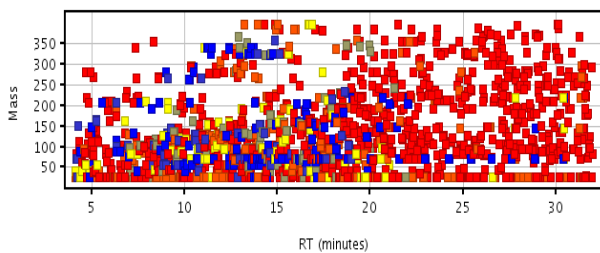


Fig. 2 RT vs Mass Plot

次に、Quality Control によるフィルタリングにより、信頼性の低い Entity を排除し、1528 から 217 に絞り込むことができました (どちらかのサンプルに 100%存在する Entity のみ)。その結果を Fig. 3 に示しました。

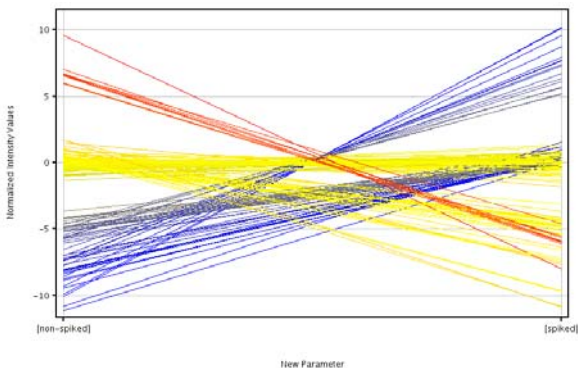


Fig. 3 Quality Control によるフィルタリング結果

最後に、Volcano Plot (T-検定による p -value < 0.01、Fold change は > 2) を用いて、統計的に有意差によるフィルタリングを行った結果、Entity を 217 から 26

へ絞り込むことができました。Fig. 4 に、Volcano Plot を示しました。

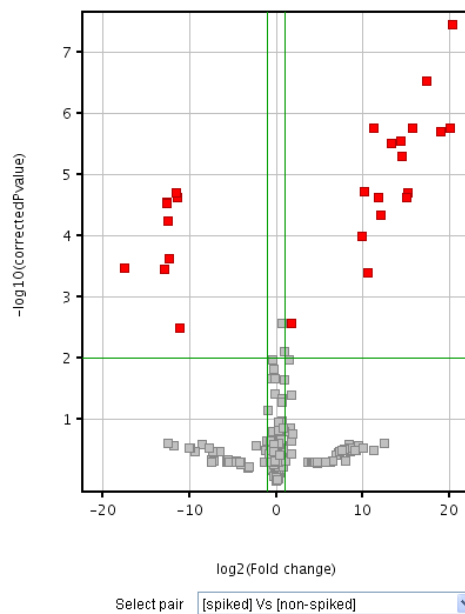


Fig. 4 Volcano Plot によるフィルタリング

Mass Profiler Professional の ID Browser を用いて、26 の Entity のライブラリ検索を行った結果、クロマトグラムの比較では、確認が困難な 4 成分についても抽出が可能で、添加異臭 8 成分中 6 成分の抽出が行えました。Table 2 に、Entity リストを示しました。

Table 2 Entity リスト

Compound	non-spik.	spiked	Annotations	Mass	Reten.	CAS Nu.
Furan, tet	193434.2	1.0	1.0 Furan, tetrahydro- [C4	42.0	4.120	109-9
Heptane...	7781.36	1.0	Heptane, 3-methyl- [C	43.0	4.453	589-8
2,9-DiH...	19660.2	1.0	Heptane, 2,2-dimethyl-	57.0	4.633	1071-
3-Buten...	6483.481	1.0	3-Buten-2-one, 3-meth	43.0	4.861	814-7
2-Hexen...	3984.65	1.0	2-Hexene, 2,5,5-trimet	57.0	5.239	40467-
Silane, di	9711.732	1.0	Silane, diethoxydimetho	165.0	6.746	18143-
211.0#7	1134.65	1.0		211.0	7.856	
Phenol, 2	106099	1.0	Phenol, 2-chloro- [C6H	128.0	8.805	95-5
1,2,3,5-	2386.55	1.0	1,2,3,5-Benzenetetrac	279.0	11.636	3034-
Phenol, 2	495766.1	1.0	Phenol, 2,4-dichloro- [162.0	11.801	120-8
2-Methyl	35209.912	1.0	2-Methylphenol [C1	95.0	12.082	2371-
Phenol, 2	164056	1.0	Phenol, 2,6-dichloro- [162.0	12.347	87-6
41.0#13	5167.43	1.0		41.0	13.052	
29.0#13	2916.08	1.0		29.0	13.757	
29.0#14	3386.08	1.0		99.0	14.186	
Benzene...	52851.69	1.0	Benzene, 1,3,5-trichlor	195.0	14.196	87-4
Tetracos	13520.5	43535.4	Tetracosane [C24H50	71.0	14.288	646-3
Butanoic	21475.21	1.0	Butanoic acid, butyl este	89.0	14.944	109-2
L-Alanine	2300.01	1.0	L-Alanine, N-(4-butylbe	161.0	15.021	100021
29.0#15	6075.76	1.0		29.0	15.241	
4#2H...	32707.1	1.0	4#2H-Naphthalenol, o	112.0	15.268	19700-
Phenol, 3	3044.171	1.0	Phenol, 3,5-bis(1,1-di	191.0	15.651	1138-
29.0#17	6356.70	1.0		29.0	17.701	
179.0#1	1500.83	1.0		179.0	17.900	
100.0#2	878.9902	1.0		100.0	20.602	

→ 2-Chlorophenol
→ 2,4-Dichlorophenol
→ 2-MIB
→ 2,6-Dichlorophenol

→ 2,4,6-TCA

→ Geosmin

4. まとめ

Mass Profiler Professional は、2 試料間で、ピーク強度が異なる成分 (統計的に優位差がある成分、 $n=3$ 以上必要) を簡単な操作で抽出することができるため、異臭成分の特定に有用でした。

【GCMS-200912NK-001】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp



Agilent Technologies