

本資料は、Alpha MOS（フランス）にて分析した結果に基づくものです。

目的

スパイスのような調味料は、食するのに安全で、汚染の可能性がなく、その官能的品質が維持され一貫していることを保証するために、厳しく管理されています。本研究では、高速ガスクロマトグラフィー型電子嗅覚システムである HERACLES II を用いて、想定し得るブラックペッパーのミネラルオイルによる汚染の検出とスパイスの全体的な官能的品質の評価を試みました。



装置：

フラッシュ GC ノーズ HERACLES II

超高速GC 技術を基盤としたフラッシュGC ノーズ HERACLES II (図1) には、極性の異なる2 種類のメタルキャピラリーカラムが並行に配置され（本研究では、微極性のMXT-5 と低/中極性のMXT-1701、長さ10m、内径180 μ m を使用）、各々に水素炎イオン化検出器（FID）が接続されています。同時に2 つのクロマトグラムが得られるため、保持指標データによる化合物検索の際、より明確な絞り込みが可能となります。

また、ペルチェ式クーラー（0 - 260 $^{\circ}$ C）により温度制御された固相吸着トラップが内蔵されているため、低分子の揮発性化合物の効果的なプレ濃縮を実現し、優れた感度（pg オーダー）を得ることができます。カラムの高速昇温（最大600 $^{\circ}$ C/min）により、2~3 分程度で測定結果が得られ、分析サイクルもわずか 5~9 分です。



図 1: 超高速 GC 技術を基盤としたフラッシュ GC ノーズ HERACLES II

装置本体には、サンプリングと注入の自動化のためにオートサンブラ（RSI）が据え付けられています。操作はソフトウェアAlphaSoft を介して行います。

AlphaSoft は、クロマトグラフィー機能に加え、サンプルのフィンガープリント分析や比較、定量・定性モデルや品質管理チャートの構築など、データを視覚化するための様々な多変量解析ツールも備えています。

AroChembase : 化合物のプレスクリーニングと官能的特徴づけのための保持指標 & においライブラリ

本システムには、保持指標 & においライブラリ AroChemBase が付属しています。ライブラリには、化合物ごとの名称、分子式、CAS 番号、分子量、保持指標といった化学情報に加え、官能記述子や閾値情報、そして関連する文献情報まで含まれています。AroChemBase によって、HERACLES II のクロマトグラムから化合物の予備スクリーニングを行うことができます。

サンプルと分析条件

はじめに、保持時間を保持指標に変換するために、n-アルカン（n-ヘキサンからn-ヘキサデカンまで）の標準混合液を測定しました。これにより、保持指標 & においライブラリAroChemBase を用いて化合物の特徴付けを行うことができます。

次に、ブラックペッパーの汚染あり・なしの複数ロット（表 1.1 と表 1.2）を、HERACLES II を用いて表 2 の条件で測定し、得られたデータの定性・定量分析を行いました。

表 1.1: 定性分析用のブラックペッパーサンプル

サンプル名	品質	コメント
Q1T2	適合	ミネラルオイルによる汚染なし
Q1T3		
Q1T4		
Q1T5		
Q2T2		
Q2T3	不適合	ミネラルオイルによる汚染あり
Q2T4		
Q2T5		
BL1		
BL2	ブラインドサンプル	品質未知
BL3		
BL4		
BL5		
BL5		

表 1.2: 定量分析用のブラックペッパーサンプル

サンプル名	コメント
CA01	適合品 + 0.1% ミネラルオイル
CA05	適合品 + 0.5% ミネラルオイル
CA1	適合品 + 1% ミネラルオイル
CA2	適合品 + 2% ミネラルオイル
CA3	適合品 + 3% ミネラルオイル
BN1	ブラインドサンプル ミネラルオイル含量未知
BN2	
BN3	
BN4	
BN5	

表 2: ブラックペッパーサンプルの HERACLES II 分析パラメータ

パラメータ	設定値
サンプル量	1 g ± 0.1g
バイアルサイズ	20 mL
インキュベーション条件	20 min @ 60°C
ヘッドスペース注入量	2 mL
カラム昇温条件	50°C (2s) - 80°C @ 1°C/s - 250°C (21s) @ 3°C/s
FID 温度	270°C
データ取得時間	110 s
測定間隔	8 min

クロマトグラム

汚染あり・なしのブラックペッパーの揮発性化合物プロファイルと比較したところ、顕著な差異を示しました (図 2)。汚染されたブラックペッパーは、汚染されていないものよりも高濃度の揮発性化合物が検出されました。

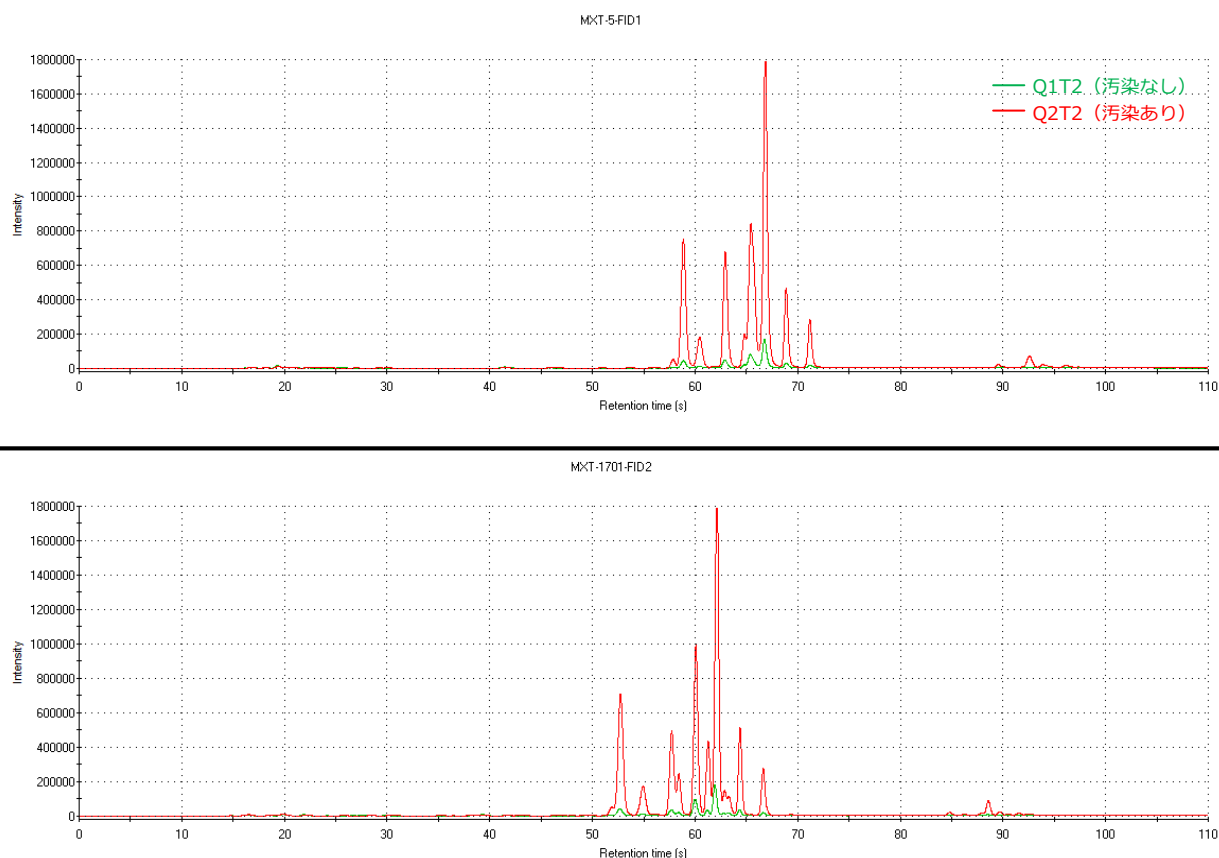


図 2: 汚染なしのブラックペッパー (Q1T2) とミネラルオイルで汚染されたブラックペッパー (Q2T2) の HERACLES II によって得られたクロマトグラム

ブラックペッパーのにおいの定性分析

表 1.1 に示した品質の異なるブラックペッパーについて、においのプロファイルを迅速かつ簡便に比較するために、主成分分析に基づくにおいマップを構築しました (図 3)。

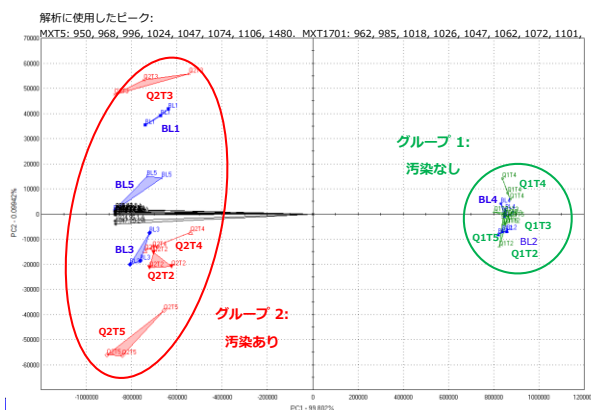


図 3: 品質の異なるブラックペッパーのにおいマップ

統計解析によって、ブラックペッパーの異なる品質間の差異を確認できました。品質未知のサンプルのうち、BL2 と BL4 は汚染なしのブラックペッパーを含むグループ 1 に近いポジションを示しました。一方、BL1、BL3、BL5 は、他の未知サンプルとは明確に識別され、ミネラルオイルで汚染されたブラックペッパーから構成されるグループ 2 に近いポジションを示しました。変数 (=ピークの保持指標) のローディングを重ね合わせることで、サンプル間の差異に寄与する揮発性化合物を明らかにしました。

検出されたピークの保持指標と AroChemBase を用いて、ブラックペッパーのにおいの差異に関わる揮発性化合物の性質を調査しました (表 3)。太字で示した保持指標は識別性の高い化合物を示します。汚染の有無に関わらず、いずれのサンプルも同一の化合物を含んでいましたが、それらの構成比に差異が認められ、汚染ありのブラックペッパーはより高濃度の揮発性化合物を含んでいました (図 4)。

表 3: ブラックペッパーサンプル中の揮発性化合物

RT MXT-5 (± 0.1s)	RT MXT-1701 (± 0.1s)	KI MXT-5 (± 20)	KI MXT-1701 (± 20)	Possible identification	Descriptor
16.8	16.6	448	501	methanol	pungent
19.4	20.0	501	600	2-propanol	alcoholic, ethereal
41.5	39.3	777	829	toluene	caramelized, paint, solvent
59.0	52.9	950	962	(-)-α-pinene	fruity, green, terpenic
60.5	55.0	968	985	β-pinene	pine, sweet
63.0	57.9	996	1018	β-myrcene/α-phellandrene	balsamic, fruity/spicy, terpenic
64.9	58.6	1020	1026	nd	-
65.6	60.2	1029	1047	β-phellandrene	herbaceous, minty
-	61.3	-	1062	ethyl hexanoate	anise, sweet
66.9	62.2	1047	1072	limonene	citrus, minty, woody
69.0	64.5	1074	1101	terpinolene	fruity, pine, sweet
71.2	66.8	1106	1134	p-menthatriene	turpentine
92.6	88.6	1480	1514	β-caryophyllene	woody, spicy

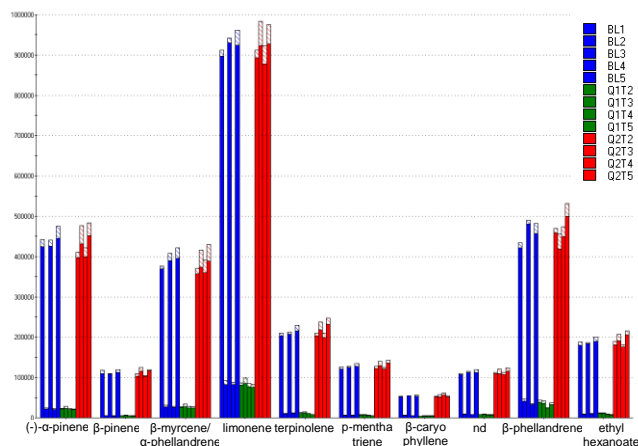


図 4: ブラックペッパー中の主要な揮発性化合物のピーク強度

4 つの汚染なしのブラックペッパーを基準品質として考慮した SQC (統計的品質管理) 解析に基づく品質管理モデルを構築しました (図 5)。青で示したブラインドサンプルの 3 ロット BL1, BL3, BL5 は、4 つの汚染ありのブラックペッパー (Q2T2 - Q2T5) と同様に適合領域 (緑の帯) 外にプロジェクトされ、要求される品質に適合していないことが示されました。

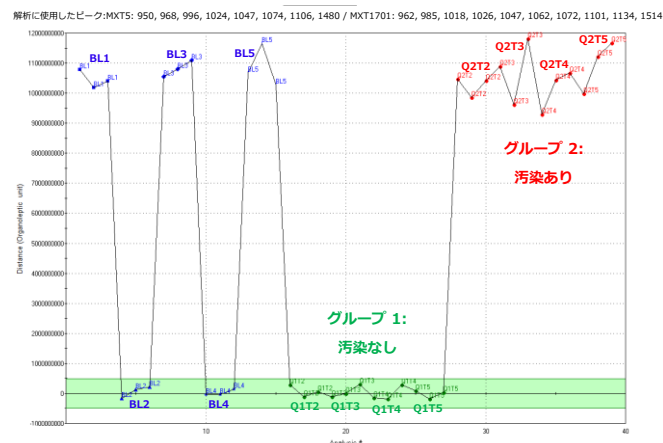


図 5: ブラックペッパーサンプルの品質管理チャート

ブラックペッパーの汚染の定量分析

ブラックペッパー中のミネラルオイルの汚染濃度を評価するために、オイルの汚染濃度既知のサンプル（表 1.2 の CA01~CA3）のデータを用いて、PLS 解析に基づく汚染の定量モデルを構築しました（図 6）。

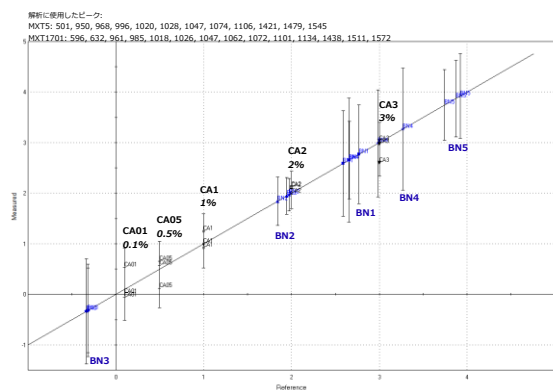


図 6: ミネラルオイル汚染濃度 (%) と高い相関性を示した PLS モデル

上記の PLS モデルは良好な相関が示されたので、ブラインドサンプル BN1~BN5 におけるミネラルオイルの汚染濃度の予測に利用することができます（表 4）。

表 4: PLS モデルへのプロジェクトによって得られた
ブラインドサンプル中のミネラルオイル汚染濃度

サンプル	予測された汚染濃度(%)
BN1	2.7
BN2	1.9
BN3	-0.3
BN4	3.0
BN5	3.9

BN3 は、CA01 の汚染濃度に近い予測結果を示し、ミネラルオイルによる汚染がないと推測されます。一方、BN5 は汚染濃度が 4%に近い高い数値を示し、汚染度合いが最も高いことが疑われます。

結論

本研究により、フラッシュ GC ノーズ HERACLES II がブラックペッパーの品質モニタリングに有用であることが示されました。分析結果は、ミネラルオイルの汚染の有無に関わる品質に依存するにのびのプロファイルの重要な差異を明らかにしました。また、予め汚染濃度既知のサンプルのデータを用いて構築した定量モデルに従って、ブラインドサンプルのミネラルオイルによる汚染の程度を評価することができました。

AroChemBase を用いることで、品質の異なるブラックペッパーのにおいのプロファイルの差異に関連する化合物として、溶媒 (2-propanol) やエステル (ethyl hexanoate)、テルペン類 ((-)- α -pinene, β -pinene, β -myrcene/ α -phellandrene, β -phellandrene, limonene, terpinolene, p-menthatriene, β -caryophyllene) など、複数の化合物が推定されました。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。 2016年12月