

目的

食品の酸化状態を把握するために、様々な技術が用いられています。特に、ペットフードの原料や最終製品の業界では、様々な酸化的副産物分子を迅速かつ正確に同定・測定することが求められています。本研究の目的は、フラッシュ GC ノーズ Heracles NEO (Alpha MOS, France) を用いて、チキンミール製品の様々な酸化状態を判別し、過酸化価値 (PV) との相関関係で記述することです。

これは工場内での使用に対する新たなアプローチであり、ペットフードメーカーが購入する様々なマトリックスに対する基準/モデルを開発するものです。



サンプルと測定条件

サンプル

分析には、ペットフードメーカーから提供されたチキンミール49サンプルを使用しました。サンプルはPV値によって7つのグループに分けられました。

表 1. サンプルセット

PV Range	Code
1-10	P0W, 69W, 20W, 21W, 10W, 23W, 62W, 63W, 51W, 52W, 41W (11 samples)
10-20	65W, 70W, 75W, 1W, 13W, 14W, 17W, 22W, 26W, 60W, 66W, 30W, 56W, 19W, P1W, 16W (16 samples)
20-50	9W, 12W, 18W, 45W, 61W, P2W (6 samples)
50-100	P3W
100-200	P4W
>200	P5W
Unknown	4W, 25W, 28W, 29W, 32W, 38W, 47W, 53W, 64W, 67W, 72W, 58W, 71W (13 samples)

フラッシュ GC ノーズ Heracles NEO

超高速 GC 技術を基盤としたフラッシュ GC ノーズ Heracles NEO (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 Restek 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、ペルチエ式クーラー (0-280 $^{\circ}$ 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、優れた感度を得られます。カラムの高速昇温 (最大 480 $^{\circ}$ C/分) により、2~3 分程度で測定結果が得られ、分析サイクルは 5~9 分程度です。



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

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プラ (PAL3 RSI, CTC Analytics) が据え付けられています。操作は AlphaSoft ソフトウェアを介して行います。AlphaSoft は、クロマトグラフィ機能に加え、サンプル比較のためのフィンガープリント分析、定量・定性モデル、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

本試験で用いられた Heracles NEO には、保持指標 & においライブラリ AroChemBase (Alpha MOS, France) が追加されています。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、加えて関連する文献情報まで含まれています。AroChemBase によって、Heracles 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い、官能的特徴の情報を得ることができます。

におい分析

測定条件

本分析に最適化された測定条件は表 2 のとおりです。

表 2 : Heracles NEO 分析パラメータ

パラメータ	
サンプル量	2g + 脱イオン水 5mL
バイアルサイズ	20 mL
データ取得時間	210 s
インキュベーション温度	70° C
インキュベーション時間	20 分
ヘッドスペース注入量	5 mL

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) の標準混合液を測定しています。

揮発性成分のプロファイル

低 PV (<10 meq O₂/kg) と高 PV (>200 meq O₂/kg) のチキンミールの「におい」のプロファイルの比較を図 2 に示しました。クロマトグラムには、量的および質的な違いが認められました。

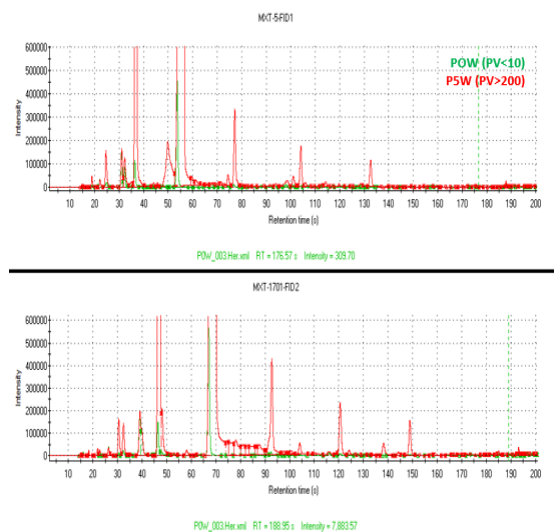


図 2 : Heracles NEO で測定した新鮮なチキンミール (PV < 10 meq O₂/kg) とかなり酸化したチキンミール (PV > 200 meq O₂/kg) の揮発性プロファイルの比較

最も識別に寄与している揮発性化合物のピークを変数として、主成分分析に基づくにおいマップを構築しました (図 3)。低 PV サンプルと高 PV サンプルは識別されました。

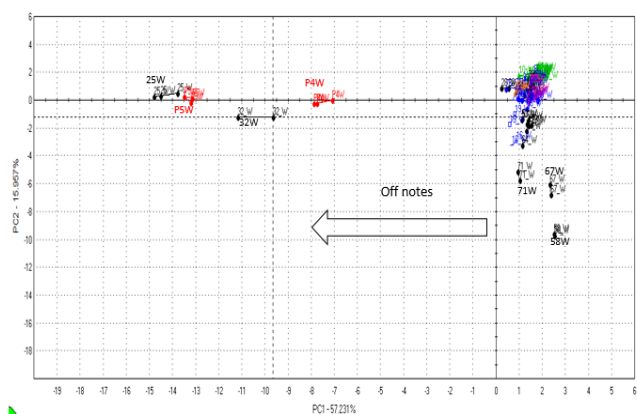


図 3 : Heracles NEO の選択した揮発性化合物を用いた主成分分析 (PCA) に基づくチキンミールのにおいマップ

PV レベルの予測モデル

PLS 回帰アルゴリズムに基づいて、PV 範囲と Heracles NEO の応答値（クロマトグラム）の相関関係が確立されました（図 4）。PLS モデルは、トレーニングサンプルを用いて構築され、正の相関関係が確立されます。未知サンプルは、Heracles NEO による予測のためにモデルに投影されました。

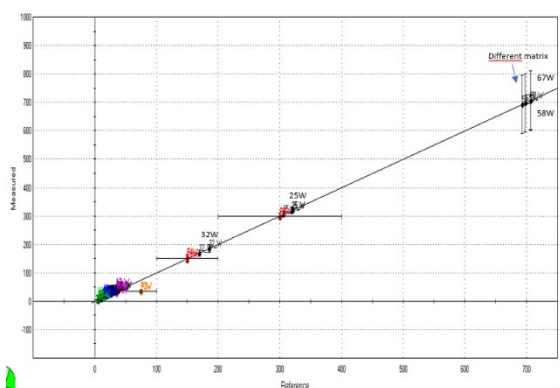


図 4：Heracles NEO で検出した最も識別性の高い揮発性化合物を用いたチキンミールの PLS モデル

PV レベルの予測

Heracles NEO で未知サンプルの PV を推定することができました。サンプル 58 と 67 は主成分分析結果から、他のサンプルとにの質が異なるポジションに分類されました。

#	未知のサンプル	Heracles NEO による PV 値の予測
1	4_W	7.54±1.4
2	38_W	10.15±1.1
3	29_W	17.81±1.0
4	47_W	20.46±1.9
5	53_W	20.33±0.2
6	72_W	21.6±1.8
7	28_W	26.63±1.1
8	64_W	26.78±0
9	71_W	38.76±0.7
10	32_W	177.31±7.8
#	25_W	315.12±6.7
#	58_W	699.47±6.7
#	67_W	702.01±4.2

*グレーは範囲外のサンプル - トレーニング用サンプルには存在しない特定の化合物があることを示しています。

AroChemBase による揮発性化合物の推定

チキンミールの酸化レベルに関与する最も識別性の高い揮発性化合物の性質を、それらの Kovats Index、AroChemBase データベースおよびその平均面積を用いて調べたところ、識別の要因となる主な揮発性化合物は、アルデヒド類、アルコール類、および酸性化合物であることが示されました（表 3）。ヘキサナール、ペンタナール、誘導体などの化合物は、P0W よりも P1W から P5W で、酸化がより強いことを示唆しています。

結論

メーカーから提供されたチキンミールのにおい分析を行いました。ヘッドスペース注入により、PV レベルの異なるサンプルを識別することができました。PV レベルとフラッシュ GC ノーズ Heracles NEO の応答値（クロマトグラム）との間に正の相関関係が確立されました。

保持指標 & においライブラリ AroChemBase は、サンプル間の差の要因となり得る酸化生成物としてアルデヒドなどを特定することができました。

本研究は、フラッシュ GC ノーズ Heracles NEO がペットフードの酸化状態を測定するための有用なツールとなることを示唆しています。

表 3 : 最も識別性の高い揮発性化合物

カラム		
MXT5 ±20	MXT1701 ±20	想定される化合物とその説明
690	776	ペンタナール (刺激性...) ; ペンタン-2-オール (刺激性、緑色...)
709	842	3-メチル-1-ブタノール (発酵...) ; ペンタン-2-オール (辛味...)
720	834	ピリジン (生臭い、腐った...)、二硫化ジメチル (硫黄っぽい...)
762	837	2-メチルペンタナール (土っぽい...) ; 2-ペンテナール (油っぽい...)
801	884	3-ヘキセナール (緑色、草色...)
815	970	ヘキサナール (生臭い、脂っこい...) ; ブタン酸 (腐った、バター...)
994	1090	オクタナール (アルデヒド...) ; 2,4-ヘプタジエナール (脂肪性、腐敗性...) ; 2,4-ヘプタジエナール (脂肪性、腐敗性...)
1016	1153	2,4-ヘプタジエナール(脂肪分、腐敗...)
1086	1183	ノナン-2-オン (脂肪性、土類) ; 1-オクタノール (脂肪性、亜硫酸塩) ; 1-オクタノール (脂肪性、亜硫酸塩)
1130	1293	ヘプタン酸(脂肪性、腐敗性...) ; 2-ノネナール(脂肪性...)
1273	1354	2 デシナル (脂肪分...)
1288	1432	2,4-デカジエナール (揚げ物、脂っこい...)。
1361	1503	2-ウンデセナール (脂肪分、辛味...)