

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

p-クレゾールは、牛乳中の腐敗臭や畜舎臭などの原因となる揮発性化合物で、バチルス・サーキュランス<sup>1</sup>による細菌汚染によって生成されることがあります。本アプリケーションノートでは、フラッシュ GC ノーズを用いた牛乳中の p-クレゾールの定量化について紹介します。



## 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 $\mu$ 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 5~8 分です。



図 1：フラッシュ GC ノーズ HERACLES II

装置本体には、サンプリングや注入の自動化のためにオートサンブラ (HS100) 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。本研究では、2 種類のカラムの保持指標に基づいた揮発性化合物の推定を行うために、保持指標 & においライブラリ AroChemBase を使用しました。このライブラリでは、クロマトグラムから化合物の化学情報だけでなく官能的特徴を知ることができます。

## サンプルと分析条件

保持時間を保持指標へ変換するため、はじめに 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。牛乳サンプルとして、メタノール中の p-クレゾール溶液 (0.5g / L) を部分脱脂乳に 0.1~10 $\mu$ L 添加し、p-クレゾールの最終濃度として 10~ 1000 $\mu$ g / L の範囲内で段階的に調製しました。そして、20mL バイアル内に部分脱脂乳 5g と塩析を目的とした塩化ナトリウム 2g を加え、サンプルのヘッドスペースを生成しました。

表 1：牛乳分析の HERACLES 分析条件

パラメータ	値
サンプル量	5 ml
NaCl	2 g
ヘッドスペースバイアル	20 ml
加熱温度	90 $^{\circ}$ C
注入量	5 ml
トラップ捕集温度	60 $^{\circ}$ C
トラップ脱着温度	240 $^{\circ}$ C
カラム圧力	60 kPa (0s) 0.25 kPa/s - 90 kPa
オープン温度	40 (2 s) 1 $^{\circ}$ C/s - 80 $^{\circ}$ C, 3 $^{\circ}$ C/s - 280 $^{\circ}$ C (8 s)
取得時間	120 s
注入間隔	8 min

## クロマトグラフのプロファイル

牛乳サンプルのヘッドスペースは、2 分という短時間で潜在的な異臭化合物を分離することができました。(図 2)。

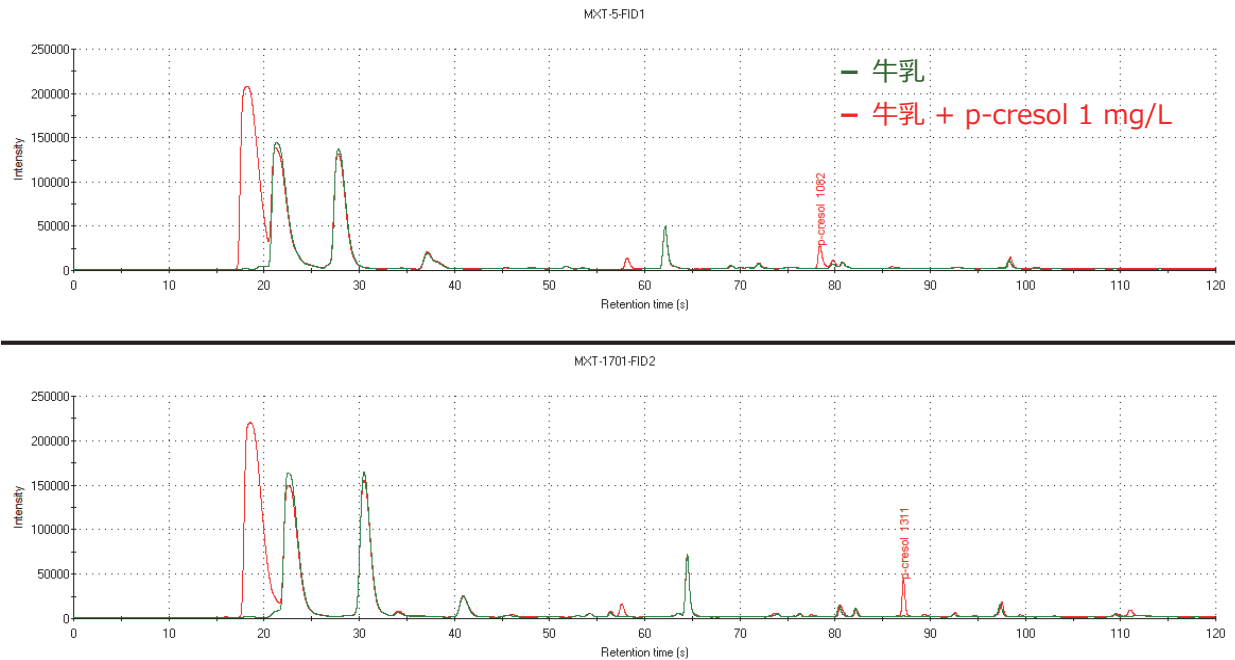


図2: HERALCESで測定されたp-クレゾールを含まない(緑) / 含む(赤)牛乳の揮発性プロファイル(横軸は保持時間(秒))

分離された複数のピークの保持指標に基づいて AroChemBase ライブラリにて検索をしたところ、その中のひとつに p-クレゾールが検出されました。同時に、p-クレゾールのにおい記述子や閾値に関する情報も得られました(図3)。

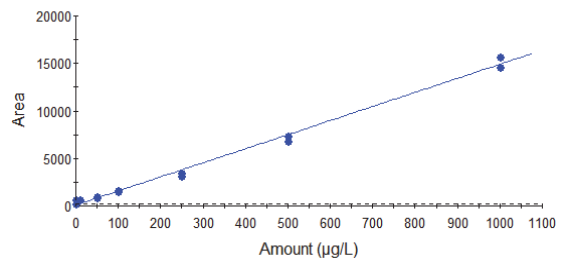


図4: 牛乳中のp-クレゾールの検量線(MXT-5カラム)

この分析法で、牛乳中の p-クレゾールの検出限界は 10µg/L と推測されました。これは、水中における p-クレゾールの嗅覚検知閾値 60 µg/L よりも低い濃度です。

### 結論

フラッシュ GC ノーズ HERACLES II は、嗅覚閾値に匹敵する感度で牛乳中の異臭物質である p-クレゾールを迅速に定量化する強力なツールとなることが示されました。

<sup>1</sup> Gürsoy & Kinik (2003) Off-flavours in milk and milk products. Journal of Engineering Sciences 9(1):79-88

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。

2015年2月

CAS #	Name	Molecular Weight	DBP-1	DBP-2	DBP-3	DBP-4	DBP-5
111-07-5	p-Cresol	108	1085	1076	1057	1056	1051
2086-2	p-Cresol	108	1086	1089	1041	1046	1052
105-05-6	p-Cresol	108	1086	1086	1044	1074	1076
3699-77-3	p-Cresol	108	1086	1240	1050	2030	2027
109-39-4	p-Cresol	108	1075	1055	2034	2042	2042
142-307-5	p-Cresol	108	1076	1052	1424	1455	1455
106-44-5	p-Cresol	108	1076	1072	1082	2030	2027
132659-1	p-Cresol	108	1082	1144	1056	1444	1440
82-32-3	p-Cresol	114	1084	1049	1707	1706	1706
132659-1	p-Cresol	124	1082	1227	1059	1059	1059
82-32-3	p-Cresol	142	1082	1183	1072	1391	1327
109-39-4	p-Cresol	136	1084	1072	1059	1059	1059
106-38-9	p-Cresol	108	1087	1088	1339	1327	1327
109-39-4	p-Cresol	108	1089	1195	1086	1647	1641
106-38-9	p-Cresol	142	1108	1194	1083	1302	1307
2086-2	p-Cresol	128	1110	1260	1086	2212	2212
69-12-9	p-Cresol	122	1113	1282	1086	1809	1806
3036-20-5	p-Cresol	124	1115	1247	1086	1607	1591
149-07-5	p-Cresol	144	1123	1247	1123	1846	1866
2302-25-1	p-Cresol	108	1138	1105	1655	1674	1674
149-24-4	p-Cresol	117	1144	1089	1910	1917	1917
200-98-6	p-Cresol	113	1145	1145	1796	1796	1796
60384-8-8	p-Cresol	140	1146	1564	1123	1513	1500
111-14-4	p-Cresol	100	1159	1282	1079	1951	1944
130-14-2	p-Cresol	130	1165	1269	1124	1686	1679
108299-4-4	p-Cresol	140	1158	1279	1126	1540	1527
246393-9	p-Cresol	140	1182	1310	1133	1636	1600
123-07-9	p-Cresol	122	1185	1265	1141	2163	2022
123-07-2	p-Cresol	144	1190	1179	1179	2069	2068
109-39-4	p-Cresol	128	1182	1182	1182	1747	1736
246393-9	p-Cresol	106	1183	1228	1170	1620	1617
109-39-4	p-Cresol	104	1185	1330	1171	1670	1709

図3: AroChemBaseで検索されたp-クレゾールの保持指標とにおい記述子、および閾値データ

### 検出閾値

牛乳中の p-クレゾール濃度の検量線を描くと、良好な直線性が示されました(図4)。