

オンサイトサンプリングによる カビ汚染みかんの揮発性成分分析

はじめに

みかんのカビ汚染は流通・保存中に発生し経済的被害を出していますが、その発見は目視確認で行われています。カビが発する揮発性成分を検出することはカビ汚染の早期発見につながる可能性があり重要ですが、分析機器に制限があることも少なくありません。本アプリケーションでは別施設にてカビを播種したみかみを調製・揮発性成分をサンプリングしたのち、当社のオンラインSPE-GC/MSシステムを用いて揮発性成分分析を行ったオンサイトサンプリングの例をご紹介します。

オンサイトサンプリング法



前処理フロー



分析条件

SPE-GCインターフェース

固相カートリッジ

PTV注入口

インサート

注入口温度

ガスクロマトグラフ

注入条件

制御モード

プレカラム

分析カラム

オープン温度

トランスファーライン

質量分析計

イオン源温度

データ取得モード

SPL-M100FE (AiSTI SCIENCE)

Flash-SPE PBX

LVI-S250 (AiSTI SCIENCE)

スパイラルインサート

70℃(0.3 min)-100℃/min-290℃

大量注入法; 溶媒バント, 100 mL/min (0.3 min)
-splitless (2.7 min)-50 mL/min (1 min)-15 mL/min

流量一定 (コンスタントフロー), 1.4 mL/min

0.25 mm i.d. x 0.5 m

Vf-5ms, 0.25 mm i.d. x 30 m, df=0.25 μm

40℃(4 min)-5℃/min-160℃-30℃/min-310℃(2min)

290℃

260℃

Scan (m/z 33-350)



SPL-M100FE
for SPE-GC system

Sample



みかん/カビ

Information

技術開発部
新川 翔也

AiSTI SCIENCE

Product

オンライン SPE-GC
SPL-M100FE

固相カートリッジ
Flash-SPE

大量注入口装置
LVI-S250



AiSTI SCIENCE CO.,Ltd.

Tel : +81-73-475-0033

E-mail : as@aisti.co.jp

HP : www.aisti.co.jp

結果

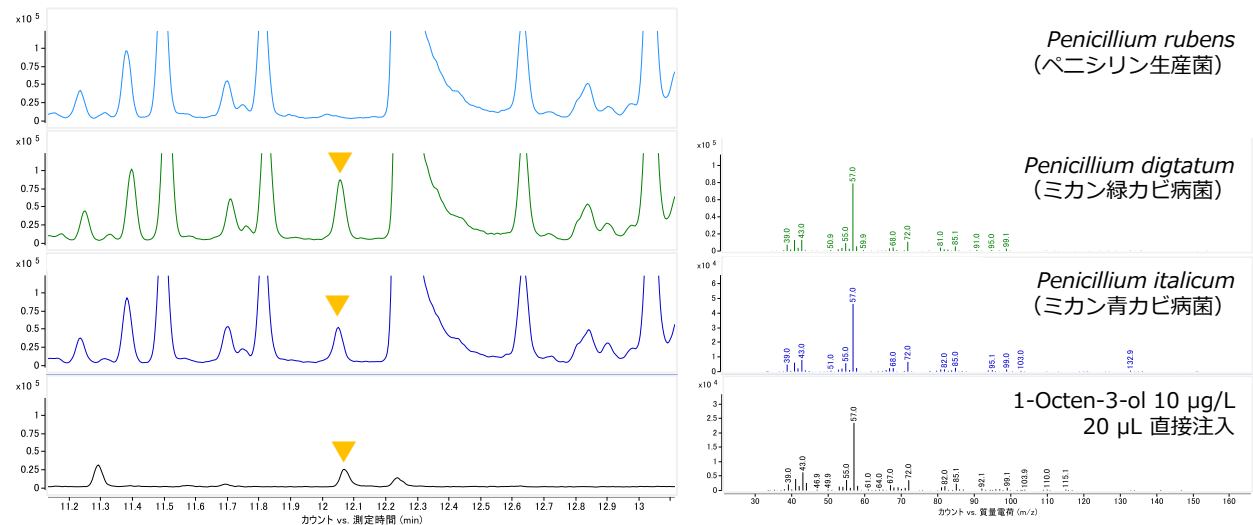


図 1: 各カビ播種みかん試料の抽出イオンクロマトグラム (m/z 57) および検出されたカビ臭成分ピーク (左▼) とマスペクトル (右)

表 1: カビ播種みかん試料で検出されたピークの化合物推定結果およびピーク強度

RT (min)	m/z	化合物推定結果	ミカン 無傷	ミカン 有傷	ミカン P.ch接種1	ミカン P.ch接種2	ミカン P.ch接種3	ミカン P.dig接種1	ミカン P.dig接種2	ミカン P.dig接種3	ミカン P.ita接種1	ミカン P.ita接種2	ミカン P.ita接種3	ミカン A.o接種
5.37	55	3-methyl-1-Butanol	4,945	14,112	4,491	37,709	36,275	7,254	684,045	2,025,966	38,603	122,775	63,473	35,279
6.76	75	Hexanal	317	641	14,424	16,042	16,840	6,626	8,433	10,008	10,323	13,115	13,499	16,703
7.27	71	1-Ethoxy-3-methyl-2-butene	2,562	3,223	3,911	2,689	1,904	2,693	299,345	11,150	2,426	3,178	2,850	3,563
10.32	93	3-Thujene	1,069	23,309	4,104	2,730	3,910	10,842	241,801	440,296	710,640	182,537	99,899	6,320
10.54	93	alpha-Pinene	19,107	115,066	37,462	25,782	35,375	68,013	1,512,608	2,258,921	3,335,142	1,020,178	496,669	52,444
11.07	93	Camphene	5,233	5,674	5,738	5,484	5,502	7,172	16,587	20,239	23,041	10,615	9,217	5,476
11.95	93	beta-Pinene	9,421	60,982	20,590	13,108	18,370	43,184	660,743	888,051	1,277,348	299,914	236,585	25,978
12.05	72	1-Octen-3-ol	5,445	1,040	2,088	1,029	1,469	1,035	8,911	25,943	7,353	17,415	3,489	1,790
12.87	93	alpha-phellandrene	709	2,250	632	833	1,501	1,728	15,984	18,453	23,850	14,529	8,188	1,137
13.62	68	Limonene	327,713	2,096,835	914,203	599,707	702,788	2,193,686	24,158,660	20,865,160	25,753,130	24,828,110	10,848,130	1,086,360
14.86	105	Acetophenone	53,495	41,477	28,962	27,274	32,261	33,703	39,541	37,828	29,594	29,257	30,871	29,771
14.99	56	1-Octanol	21,503	30,167	34,322	17,412	33,231	44,002	74,326	174,907	53,132	55,557	46,972	29,129
18.87	59	alpha-Terpineol	13,396	45,254	31,415	23,640	29,656	108,132	309,001	292,932	49,839	109,256	100,655	23,881
25.07	91	Isocaryophyllene	7,010	11,109	14,888	13,062	17,867	12,481	23,870	18,533	15,504	13,495	17,411	13,665
26.71	189	gamma-Selinene	2,105	8,268	14,494	8,865	11,807	6,357	14,040	14,315	9,351	9,161	12,515	8,266

試料の外観



① ② ③ ④ ⑤

文献調査からカビ汚染ミカンから1-Octen-3-olが生産されることが推定されていた。作製したカビ播種ミカンから放出される揮発性成分を小型固相カートリッジで捕集しオンラインSPE-GC/MSシステムで分析した結果、以下の結果が確認された。

- ① 果皮に軽く傷をつけることで病原菌が感染しやすくなり、傷処理によって油胞からテルペン類などが放出される。
- ② 病原菌種でない *Penicillium rubens* (ペニシリン生産菌) や *Aspergillus Oryza* (コウジカビ) では1-Octen-3-olは低い。
- ③ *Penicillium digitatum* (ミカン緑カビ病菌) の菌糸が全体に回っている果実では1-Octen-3-olが高い強度で検出された。ブライントテストとして測定された、播種したにも関わらず感染しなかったミカン果実では低い強度を示した。
- ④ *Penicillium italicum* (ミカン青カビ病菌) は *P. digitatum*と比較して菌糸の生育範囲は狭いもののテルペン類が高い検出強度で検出され、1-Octen-3-olについても一定強度で検出された。

謝辞

本研究は令和5~7年度オープンイノベーション研究・実用化推進事業 研究課題名「農作物・食品のカビ汚染を検知する昆虫嗅覚受容体利用型簡易検査システムの基盤構築」の一部として実施されました。プロジェクトへの参画機会をご提供頂きました研究代表者の東京大学先端科学技術研究センター 光野秀文特任准教授、試料の作製および気相サンプリングについてご協力頂きました京都大学大学院農学研究科 森直樹教授および京都大学大学院地球環境学 吉見啓准教授に厚く御礼申し上げます。