

Application News

No. M271A

GC/MS
Gas Chromatography Mass Spectrometry

食品中におい成分と代謝成分の網羅測定 による品質評価法の検討

Investigation for Food Quality Control with Total Analysis of Metabolites and Volatile Compounds

食品の品質評価の方法は、その食品種／調査目的によってきわめて多岐にわたりますが、昨今では食品に含まれる成分を網羅的に分析したのち、多変量解析を行うことで対象食品の傾向を探る評価も広く行われるようになりました。

中でも、食品中のおい成分と代謝成分を網羅的に測定し、それらの結果を組み合わせる風味／機能性／劣化などの指標とすることを目的とした研究は盛んに行われています。

本アプリケーションニュースでは、日本酒をサンプルとしてそのにおい成分と食品中代謝成分を測定し、それぞれ識別が可能かどうかを検討した実験結果を示します。市販の普通酒、純米酒、大吟醸酒の3種類の清酒について、それぞれにおい成分・代謝成分の分析を行い、その結果を主成分分析しました。その結果、これら3種類の清酒の検出化合物パターンを明確に分離することができました。当手法を官能試験など従来の試験法と併用することで、より精確かつ示唆に富んだ品質評価データを採取することができると考えます。

T. Sakai

1. におい成分の分析

■ 試料

Sample

銘柄の異なる清酒3種類をサンプルとして用意しました。これらの清酒サンプルに、超純水および1 mg/mLの3-オクタノール水溶液を加え、エタノール濃度10%、3-オクタノール濃度が0.5 mg/Lとなるように調整しました。これらの調整を加えたサンプルを1 mL取ってヘッドスペースサンプラーバイアルに導入し、さらにこれに0.5 gの塩化ナトリウムを加え、塩化ナトリウムが飽和状態になっていることを確認しました。この状態のバイアルをヘッドスペースサンプラーにセットし、分析に供しました。

■ 分析条件

Analytical Conditions

Table 1 におい分析の分析条件
Analytical Condition of Odor Analysis

ヘッドスペースガスサンプラー: HS-20
トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計: GCMS-TQ8040

HS

モード	: トラップ
トラップ管	: Tenax GR
マルチインジェクション回数	: 5回
オープン温度	: 70 °C
サンプルライン温度	: 150 °C
トランスファーライン温度	: 150 °C
バイアル加圧用ガス圧力	: 100 kPa
バイアル保温時間	: 10分
バイアル加圧時間	: 2分
加圧平衡化時間	: 0.1分
ロード時間	: 1分
ロード平衡化時間	: 0.1分
注入時間	: 2分
ニードルフラッシュ時間	: 5分
サンプル封入量	: 1 mL

GC

カラム	: HP-INNOWAX (60 m × 0.25 mm I.D., 0.25 μm)
キャリアガス	: He
制御モード	: 線速度 (25.5 cm/秒)
注入方法	: スプリット
スプリット比	: 3
オープン温度	: 40 °C (5分) → 3 °C /分 → 240 °C (15分)

MS (EI法)

イオン源温度	: 200 °C
インターフェース温度	: 200 °C
チューニングモード	: 標準
測定モード	: Scan (m/z 35 ~ 350)
イベント時間	: 0.3 秒

結果

Result

用意した3種類のサンプルを、それぞれ「普通酒」「純米酒」「大吟醸」という名前でラベルしました。これらの分析結果から、先行論文* 記載の定量イオン・確認イオン・保持指標およびNIST14ライブラリを用いてピーク同定を行いました。その結果同定された化合物の数をTable 2に示します。また、今回の分析で検出された86成分をTable 3に示します。

Table 2 におい成分分析で検出された成分数
The Number of Identified Compounds in Odor Analysis

	普通酒	純米酒	大吟醸
検出成分	78	76	86

すべてのサンプルで検出された76成分を用いて、主成分分析を行いました。その結果のスコアプロットをFig. 1に示します。3種類のサンプルはスコアプロット上で十分に分離しているようでした。また、そのローディングプロットをFig. 2に示します。この結果から、それぞれのサンプルに特徴的に含まれている成分を特定することができました。

これらの結果から、におい成分を網羅的に分析し、その結果の多変量解析を行うことで、食品品質評価の一助となる可能性が示唆されました。

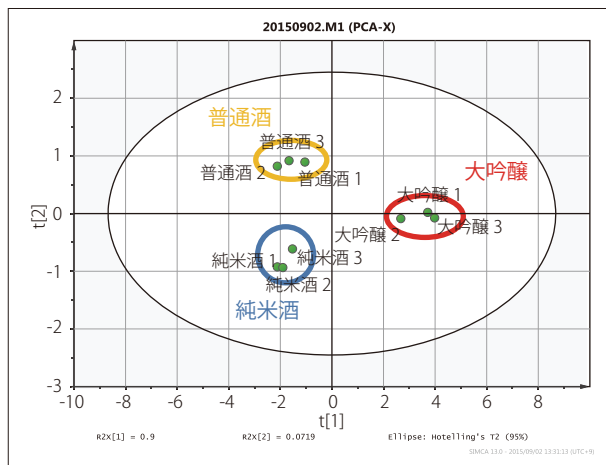


Fig. 1 におい成分分析結果のスコアプロット
Score Plot of Odor Analysis

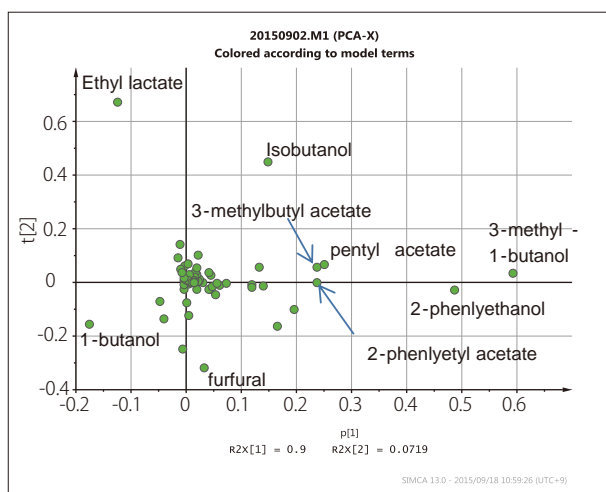


Fig. 2 におい成分分析結果のローディングプロット
Loading Plot of Odor Analysis

Table 3 におい成分分析で検出された成分一覧 (86成分)
Identified Compounds in Odor Analysis (86 Compounds)

ethyl acetate	3-methylbutyl propanoate	2-ethyl-1-hexanol	1-decanol
3-methylbutanal	4-pentenyl acetate	decanal	β -citronellol
2, 4, 5-trimethyl-1,3-dioxolane	3-methyl-1-butanol	2-nonanol	diethyl pentanedioate
ethyl propanoate	ethyl hexanoate	ethyl 3-hydroxybutanoate	ethyl phenylacetate
ethyl 2-methylpropanoate	3-octanone	benzaldehyde	2-phenylethyl acetate
propyl acetate	styrene	ethyl 2-hydroxyhexanoate	2- (2-butoxyethoxy) ethyl acetate
2, 3-butanedione	hexyl acetate	propanoic acid	hexanoic acid
isobutyl acetate	2-octanone	1-octanol	benzyl alcohol
ethyl butanoate	octanal	3-methylbutyl methoxyacetate	diethyl hexanedioate
1-propanol	acetoin	ethyl 3-methylthiopropanoate	butylated hydroxytoluene
ethyl 2-methylbutanoate	2-heptanol	ethyl decanoate	2-phenylethanol
ethyl 3-methylbutanoate	3-methyl-1-pentanol	butyrolactone	heptanoic acid
butyl acetate	ethyl heptanoate	1-nonanol	phenol
DMDS	ethyl lactate	acetophenone	dehydromevalonic lactone
1- (1-ethoxyethoxy) pentane	1-hexanol	phenylacetaldehyde	octanoic acid
isobutanol	3-ethoxy-1-propanol	furanmethanol	ethyl hexadecanoate
3-methylbutyl acetate	2-nonanone	ethyl benzoate	decanoic acid
ethyl pentanoate	ethyl octanoate	diethyl succinate	2-phenylethyl octanoate
1-butanol	1-heptanol	(Z)-3-nonen-1-ol	benzoic acid
ethyl 2-butenate	3-methylbutyl hexanoate	3-methylthio-1-propanol	dodecanoic acid
pentyl acetate	acetic acid	pentanoic acid	
2-heptanone	furfural	naphthalene	

2. 食品中代謝成分の分析

試料

Sample

次に、それぞれのサンプルから食品中代謝成分を抽出し、誘導体化を行って GC-MS 分析を行いました。

サンプルは 20 μL 取り、内部標準物質として Ribitol の水溶液 (0.2 mg/mL) を 60 μL 添加したものを濃縮遠心機にて十分に乾固させました。乾固後の残滓に、メトキシアミン塩酸塩/ピリジン溶液 (20 mg/mL) を 100 μL 加え、30 $^{\circ}\text{C}$ で 90 分振盪しました。続いて *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (MSTFA) を 50 μL 加え、37 $^{\circ}\text{C}$ で 30 分振盪しました。この試料を GC-MS バイアルに導入し、分析に供しました。

分析条件

Analytical Conditions

Table 4 食品中代謝成分分析の分析条件
The Analytical Condition of Metabolites Analysis

トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計: GCMS-TQ8040
オプションソフトウェア: Smart Metabolites Database

GC

カラム : BPX5 (30 m \times 0.25 mm I.D., 0.25 μm)
キャリアガス : He
制御モード : 線速度 (39.0 cm/秒)
注入方法 : スプリット
スプリット比 : 30
オープン温度 : 60 $^{\circ}\text{C}$ (2分) \rightarrow (15 $^{\circ}\text{C}$ /分) \rightarrow 330 $^{\circ}\text{C}$ (3分)

MS (EI法)

イオン源温度 : 200 $^{\circ}\text{C}$
インターフェース温度 : 280 $^{\circ}\text{C}$
チューニングモード : 標準
測定モード : MRM
ループ時間 : 0.25 秒

Table 5 食品中代謝成分分析で検出された成分数
The Number of Identified Compounds in Odor Analysis

	普通酒	純米酒	大吟醸
検出成分	147	140	149

結果

Result

分析結果から、Smart Metabolites Database に登録されている化合物に関して、その定量/確認イオンおよび保持指標をもとにピーク同定を行いました。同定された化合物の数を Table 5 に示します。また、今回の分析で検出された 149 成分を Table 6 に示します。

すべてのサンプルで検出された 138 成分を用いて、主成分分析を行いました。その結果のスコアプロットを Fig. 3 に示します。3 種類のサンプルはスコアプロット上で十分に分離しているようでした。また、そのローディングプロットを Fig. 4 に示します。この結果から、それぞれのサンプルに特徴的に含まれている成分を特定することができました。

これらの結果から、代謝成分を網羅的に分析し、その結果の多変量解析を行うことで、食品品質評価の一助となる可能性が示唆されました。

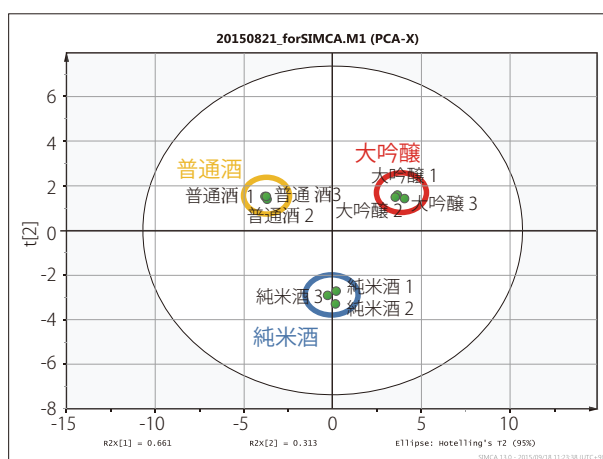


Fig. 3 食品中代謝成分分析結果のスコアプロット
Score Plot of Metabolites Analysis

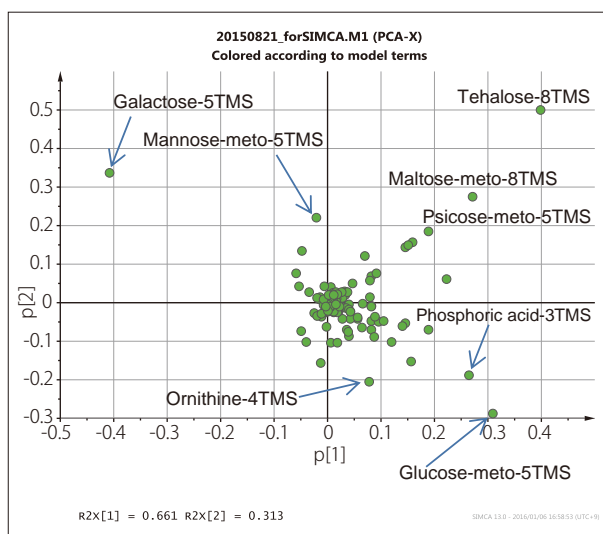


Fig. 4 食品中代謝成分分析結果のローディングプロット
Loading Plot of Metabolites Analysis

Table 6 代謝成分分析で検出された成分一覧 (149 成分)
Identified Compounds in Metabolites Analysis (149 Compounds)

2-Aminobutyric acid	Aspartic acid	Histidine	Ornithine
2-Aminoethanol	Batyl alcohol	Homocysteine	Palmitic acid
2-Aminopimelic acid	Benzoic acid	Homoserine	Pantothenic acid
2-Deoxy-glucose	Cadaverine	Hydroxylamine	Phenylacetic acid
2-Hydroxybutyric acid	Caproic acid	Hypotaurine	Phenylalanine
2-Hydroxyglutaric acid	Citramalic acid	Hypoxanthine	Phenylpyruvic acid
2-Hydroxyisocaproic acid	Citric acid	Indol-3-acetic acid	Phosphoric acid
2-Hydroxyisovaleric acid	Cystamine	Isocitric acid	Proline
2-Isopropylmalic acid	Cystathionine	Isoleucine	Psicose-meto
2-Ketoglutaric acid	Cysteine	Lactic acid	Putrescine
3-Aminoglutaric acid	Cystine	Lactitol	Pyridoxamine-4TMS
3-Aminopropanoic acid	Cytidine	Lactose	Pyruvic acid
3-Hydroxy-3-methylglutaric acid	Cytosine	Lauric acid	Ribitol
3-Hydroxybutyric acid	Decanoic acid	Leucine	Ribose
3-Hydroxyglutaric acid	Dihydroxyacetone phosphate	Lysine	Saccharopine
3-Hydroxyisobutyric acid	Dopamine	Lyxose	Serine
3-Hydroxypropionic acid	Eicosapentaenoic acid	Maleic acid	Stearic acid
3-Methoxy-4-hydroxybenzoic acid	Elaidic acid	Malic acid	Succinic acid
3-Phenyllactic acid	Fructose	Maltitol	Tagatose
4-Aminobutyric acid	Fumaric acid	Maltose	Threitol
4-Hydroxybenzoic acid	Galactose	Mannito	Threonic acid
4-Hydroxyphenylacetic acid	Galacturonic acid	Mannose 6-phosphate	Threonine
4-Hydroxyproline	Glucose	Mannose	Thymine
5-Aminolevulinic acid	Glucuronic acid	Margaric acid	Trehalose
5-Aminovaleric acid	Glutamic acid	meso-Erythritol	Tryptophan
5-Methoxytryptamine	Glutamine	Methionine	Tyramine
5'-Methylthioadenosine	Glutaric acid	Methylsuccinic acid	Tyrosine
5-Oxoproline	Glyceric acid	Mevalonic lactone	Uracil
Acetylglycine	Glycerol 2-phosphate	Myristic acid	Urea
Aconitic acid	Glycerol 3-phosphate	N6-Acetyllysine	Uridine
Adenine	Glycero	N-Acetylmannosamin	Valine
Alanine	Glycine	Nicotinic acid	Xanthine
Allose	Glycolic acid	Nonanoic acid	Xylito
Arabinose	Glycyl-Glycine	Norvaline	Xylose
Arabitol	Glyoxylic acid	Octanoic acid	Xylulose
Arginine	Guanine	Octopamine-4TMS	
Ascorbic acid	Hexanoylglycine	Oleic acid	
Asparagine	Histamine	O-Phosphoethanolamine	

[References]

* Natsuki Mimura, Atsuko Isogai, Kazuhiro Iwashita, Takeshi Bamba, and Eiichiro Fukusaki.
Gas chromatography/mass spectrometry based component profiling and quality prediction for Japanese sake
Journal of Bioscience and Bioengineering VOL. 118 No. 4, 406e414, 2014

A改訂版発行：2016年4月

初版発行：2016年3月

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075)813-1691

※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。

改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。