

## Technical Report

# SPME Arrow-GC-MSを用いたカカオ産地が異なるチョコレートの香気成分分析

Analysis of aroma compounds in chocolate formulated from cacaos from different geographical origins using SPME Arrow-GC-MS

谷口 百優<sup>1</sup>、福崎 英一郎<sup>1,2</sup>

### Abstract:

食品のフレーバーや品質を評価するための手法として、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いた香気成分分析は頻用されている。本稿では SPME Arrow-GC-MS を用いて、原料であるカカオの産地が異なるチョコレートサンプルの香気成分プロファイルを解析した。得られた成分プロファイルデータを主成分分析 (Principal component analysis; PCA) に供し4種類のチョコレートサンプルを比較することにより、原産地による香気成分の特徴を調査することができた。これらの香気成分プロファイルの差異が、各チョコレートサンプルのフレーバーの特徴を構成していると考えられた。

**Keywords:** チョコレート、香気成分、SPME Arrow、ガスクロマトグラフ質量分析計、主成分分析

## 1. はじめに

食品のフレーバーや品質を解析するための手法として、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) による香気成分分析が頻用されている。固相マイクロ抽出 (SPME) は、香気成分を簡便かつ省溶媒に抽出することができる。また多機能オートサンプラの使用によって温度や時間などの抽出条件を緻密に制御できるため高い再現性が得られやすく、複数サンプルを対象とした定量的な比較分析に適している。また SPME Arrow は従来の SPME と比較してより大容量の捕集剤がコーティングされていることから、ローディングキャパシティが大きくより高感度に成分を分析することができる。さらに、径が大きく堅牢なため高い耐久性を有する。上記の理由から SPME Arrow は食品の香気成分分析において、今後頻用される成分抽出法の一つとして期待されている。

本稿では、SPME Arrow-GC-MS を用いてチョコレートの香気成分を解析した。チョコレートサンプルは、原料であるカカオの産地が異なる4種類を対象とした。世界におけるカカオ生産量は約470万トンであり、チョコレートは世界中で広く消費されている。近年のチョコレート市場では、高品質な製品が求められており、Bean-to-Bar 製法に注目が集まっている。これはチョコレートの製造会社がカカオ豆の仕入れ段階から商品の製造までの生産プロセス全体を制御し、独自の高品質チョコレートを製造する製法である。Bean-to-Bar 製品のなかでも、単一産地のカカオ豆のみを使用した高カカオ含有量製品であるシングルオリジンチョコレート (Single origin chocolate; SOC) は、各産地のもつカカオの風味が最終製品であるチョコレートに大きく反映されるため多くの人々にその風味の違いが楽しられている。そこで本稿では、市販のシングルオリジンチョコレート4種 (異なる4カ国のカカオ使用) を実験のサンプルとして使用した。SPME Arrow-GC-MS 分析及び多変量解析の一種である主成分分析 (Principal component analysis; PCA) を用いて香気成分プロファイルの特徴を解析する

ことで、産地が異なるカカオがチョコレート製品のフレーバーに与える影響を調査した。

Table 1 SPME Arrow-GC-MS 分析条件

システム構成	
GCMS	: GCMS-TQ™8050 NX
オートサンプラ	: AOC-6000
カラム	: Supelcowax™10 (長さ 30 m 内径 0.25 mm 膜厚 0.25 μm)
SPME Arrow 条件	
SPME Arrow	: PDMS (長さ 20 mm 外径 1.1 mm 膜厚 100 μm)
Conditioning temp.	: 250 °C
Pre Conditioning Time	: 15 min
Incubation Temp.	: 36 °C
Incubation Time	: 30 min
Stirrer Speed	: 250 rpm
Sample Extract Time	: 30 min
Sample Desorb Time	: 2 min
GC 条件	
気化室温度	: 250 °C
注入モード	: スプリットレス
制御モード	: 線速度一定 (30 cm/sec)
カラムオープン温度	: 40 °C (5 min) → 3 °C/min → 240 °C (20 min)
MS 条件	
インターフェース温度	: 250 °C
イオン源温度	: 200 °C
イオン化法	: EI
測定モード	: Scan (35-350 m/z)
イベント時間	: 0.1 sec

## 2. 実験方法

カカオの産地が異なるシングルオリジンチョコレート4種類(異なる4カ国のカカオ使用、n=3)を用いた。全てのサンプルのカカオ含有率は70%だった。チョコレートサンプル5gを包丁で細かく刻み、20 mLバイアルに入れた後オートサンブラ(室温)に設置した。ヒトの体温36℃下でSPME Arrow用ファイバー Polydimethylsiloxane (PDMS) (外径1.1 mm、膜厚100 μm、長さ20 mm)を用いてヘッドスペース中の成分を捕集した。その際にチョコレートサンプルは完全に融解した。SPME Arrow条件やGC-MS条件の詳細はTable1に示した。データ解析はGCMSsolution™を用いて実施した。化合物アノテーションはNISTライブラリー及びFFNSC香料ライブラリーを用いてマススペクトルの類似度から判断して実施した。多変量解析はSIMCA® (Umetrics、スウェーデン)を用いて実施した。

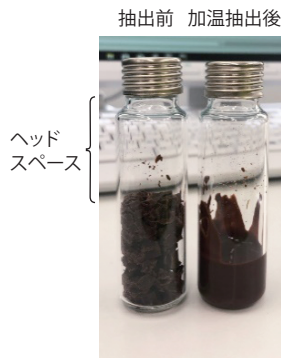


Fig.1 チョコレートサンプルの成分抽出前後  
加温振とうした後に、SPME Arrowにてヘッドスペース部の成分を抽出した

## 3. 結果

カカオの産地が異なるシングルオリジンチョコレート4種類の香気成分プロファイル(SPME Arrow-GC-MS)を用いて分析してクロマトグラムデータを得た(Fig. 2)。産地が異なるチョコレートからそれぞれ異なるクロマトグラムが得られた。また各サンプルは異なる官能特性を有し、代表的な特徴としてナッツィな香り、フルーティな香り、フローラルな香り、スパイシーな香りが挙げられることが官能評価によって明らかとなっている。カカオ産地の違いによって生じる官能特性の違いに関連する成分プロファイルを調査するために、クロマトグラムデータのピーク面積値を用いて主成分分析を実施した。第一主成分と第二主成分の寄与率はそれぞれ48.6%と33.6%だった。スコアプロット(Fig. 3)において各サンプルの実験反復間のばらつきがほとんどなかったことから、本実験系の高い再現性が示された。またカカオの産地が異なるサンプルが分離してプロットされていた。従って、カカオの産地の違いがチョコレート製品の香気成分プロファイルの違いに影響することが示唆された。またスコアプロット上には各チョコレートサンプルの香味特性を示している。スコアプロット(Fig. 3)とローディングプロット(Fig. 4)から、各チョコレートサンプルの香気成分プロファイルの特徴を調査し、それらがチョコレートの香味特性に与える影響について考察した。ナッツィな香りの特徴とするチョコレートにはピラジン類が比較的多く含まれることや、フローラルな香りの特徴とするチョコレートには脂肪族アルコールが比較的多く含まれることが明らかとなった。例えばピラジン類は一般的にナッツ様香、ココア様香、ロースト香を呈することが知られている<sup>[1]</sup>。またPhenylethyl alcoholなどのアルコール類の一部は花様の香りを呈することが知られている<sup>[1]</sup>。

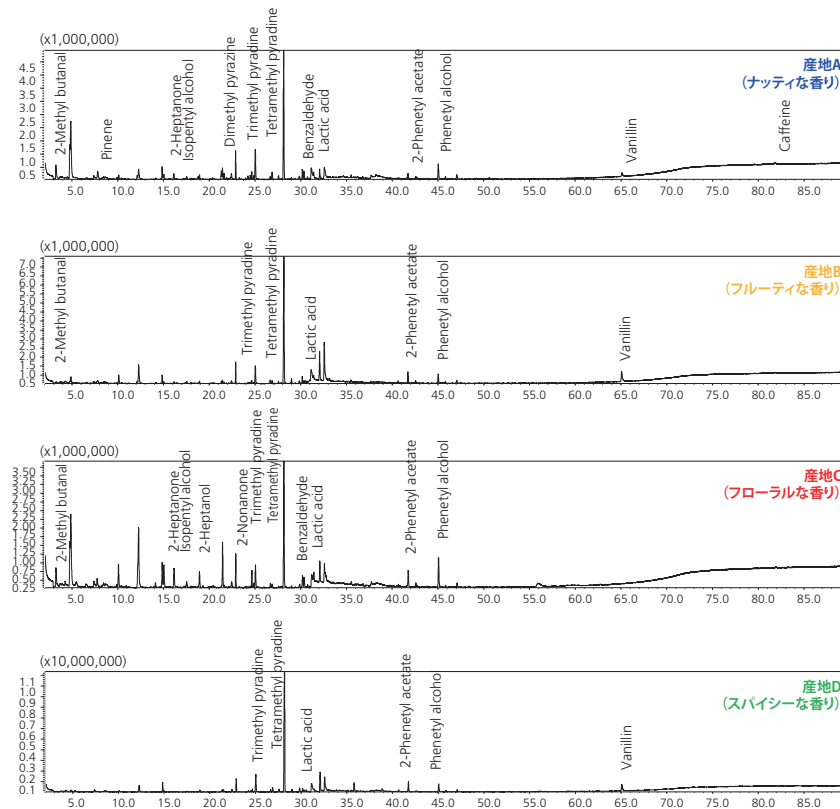


Fig.2 トータルイオンクロマトグラム(TIC)  
縦軸: ピーク強度(任意単位) 横軸: 溶出時間(分)

スコアプロットが示すようにSPME Arrowとオートサンブラ AOC-6000を使用した成分抽出方法を実施したことによって、クロマトグラムデータの高い再現性を得ることができ、異なるチョコレートサンプルの香り成分プロファイルの違いを捉えることに成功した。このことから当該分析方法は多サンプルの比較分析に適しており、また食品の官能と香り成分との相関の解析に有用であることが示された。

#### 4. まとめ

SPME Arrow-GC-MSによってカカオの産地が異なるチョコレートサンプルの香り成分プロファイルを調査し、得られたクロマトグラムデータを主成分分析によって解析した。結果としてカカオ産地が異なるチョコレートの香り成分プロファイルの差異が明らかとなり、各サンプルに特徴的な官能特性を構成している可能性がある香り成分を調査することができた。

#### 参考文献

- [1] Christine Counet, Delphine Callemien, Caroline Ouwerx, and Sonia Collin, Use of Gas chromatography-olfactometry to identify key odorant compounds in dark chocolate. Comparison of samples before and after conching, *Journal of agricultural and food chemistry*, 50, 2385-2391 (2002).

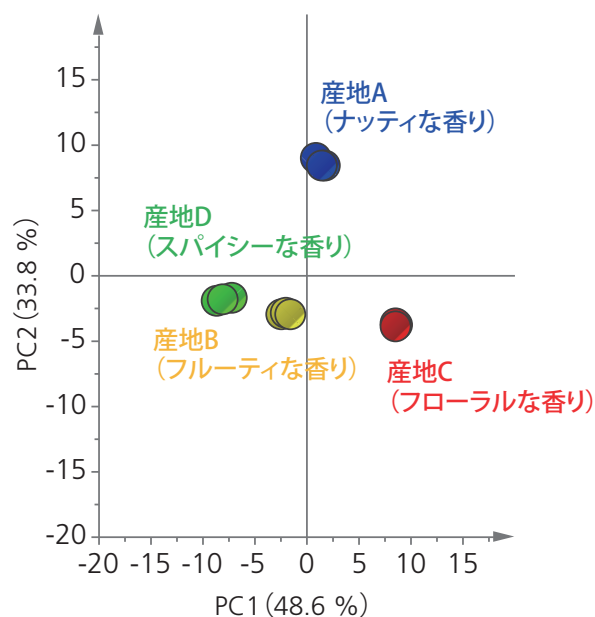


Fig. 3 主成分分析のスコアプロット (n=3)

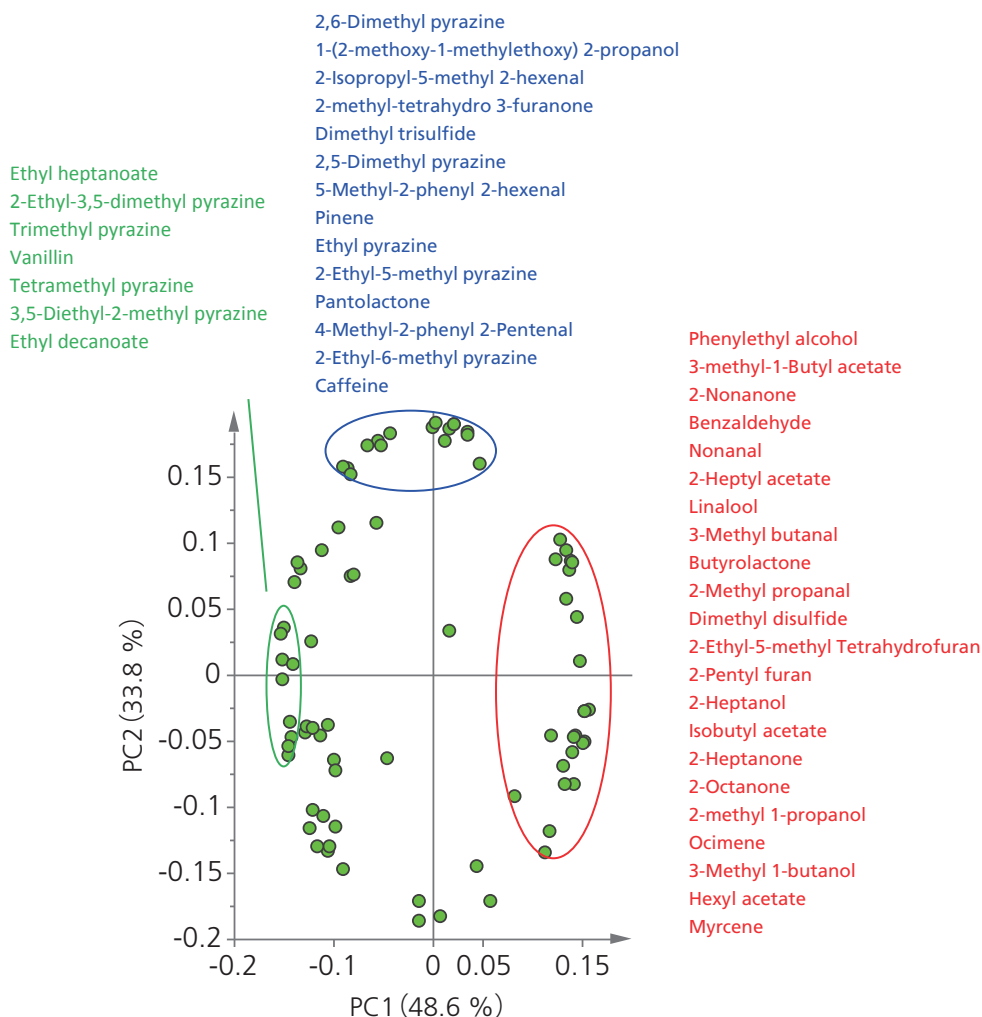


Fig. 4 主成分分析のローディングプロット (データ変換:無し、スケーリング:オート)

多機能オートサンプリングシステム

# AOC-6000 Plus

GC-MS分析の生産性を飛躍させる多機能オートサンプリングシステム



## 1台で複数の試料導入に対応

液体試料注入法、ヘッドスペース注入法、固相マイクロ抽出 (SPME) 注入法など、1台でGCMSへの様々な試料導入が可能です。さらに、自動ツール交換機能を利用することで、パークステーションに設置された各試料導入法ごとのシリンジツールを自動で交換できます。

## データへの信頼性の追求

シリンジ及びファイバーの使用履歴の管理機能を有しており、採取したデータへの信頼性が向上します。さらに、これまで手動で行っていた試料調整の自動化により、作業者の負担を軽減し、分析精度の向上を実現します。

## 最新の濃縮テクノロジーによる高感度分析

従来のSPMEに比べ感度と耐久性が向上したSPME Arrow、従来のHSに比べ高感度に分析可能なITEX DHSによる最新の濃縮テクノロジーを用いた分析が可能です。

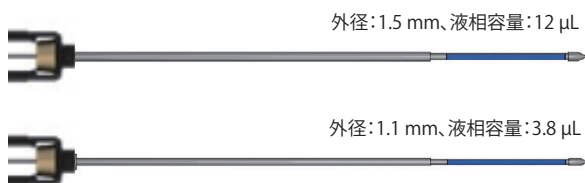
## 幅広いサンプル形態に対応

多機能注入口OPTIC-4の多彩な注入モードと組み合わせることで、固体サンプルの熱分解分析やガス成分の加熱脱着分析など、多様なサンプル形態の分析に対応します。

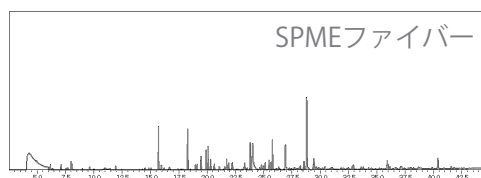
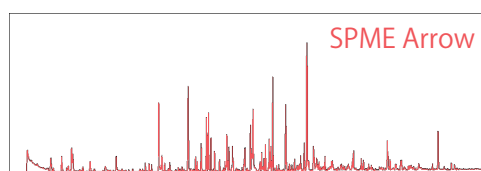
## 高感度・高耐久性を誇るSPME Arrow

SPMEの最新技術であるSPME Arrowは、従来のSPMEファイバーに比べ、大容量の吸着剤が塗布されており、高感度分析が可能です。さらに、太く頑丈な構造のため、高い耐久性を誇ります。

### SPME Arrow



### 従来のSPMEファイバー



コーヒー香気成分分析  
(SPME ArrowおよびSPMEファイバーはPDMS100µmタイプを使用)

GCMS-TQとGCMSsolutionは、株式会社島津製作所の商標です。  
Supelcowaxは、Sigma-Aldrich Co., LLCの米国およびその他の国における登録商標または商標です。  
SIMCAは、Sartorius Stedim Data Analytics AB及びその関連会社の登録商標です。

**株式会社 島津製作所**  
分析計測事業部 <https://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原作者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。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。

初版発行：2021年2月  
© Shimadzu Corporation, 2021