

多変量解析を用いた食品の品質評価(1) - トマトジュース中の代謝成分解析 -

川北 祥人、坂本 雄紀

ユーザーベネフィット

- ◆ Smart Metabolites Database™は、親水性代謝物を高感度に一斉分析することが可能です。
- ◆ 多変量解析は、サンプル間に差異のある成分を客観的に評価することができます。
- ◆ Traverse MS™ソフトウェアは、MRMデータの多変量解析を簡単に行うことができます。

■はじめに

食品および飲料市場では、おいしさに付加価値を加えた商品が数多く開発されており、健康志向のニーズを捉える保健機能食品や、より素材らしさや高級感、贅沢感を味わえる様々な高価格帯のプレミアム系商品が販売されています。これらの商品では、一般的な商品とは異なった素材、製造および流通方法などによって差別化が行われており、消費者の商品購入の選択肢の一つとなっています。

食品中に含まれる、糖、核酸、アミノ酸、有機酸や脂肪酸等の成分組成は、品種や製造方法によって差異が生じ、味、機能的成分、保存性などの食品の品質に影響を与えます。

本稿では、市販されている3種類のトマトジュースを用いて、それぞれの製品に特徴的な成分等を探索することを目的としました。Smart Metabolites Databaseにより親水性成分の一斉分析を行い、それらの成分の差異を多変量解析ソフトウェアTraverse MSにより解析を行った結果を紹介します。

■サンプル調製および分析条件

市販のトマトジュース3種類をサンプルとして用意しました。これらの製品の原材料はトマトのみ、またはトマトと食塩のみで製造されているものを選びました。

前処理のワークフローを図1に示します。トマトジュース100 μLを1.5 mLマイクロチューブに測り、内部標準物質としてRibitol水溶液 (0.2 mg/mL) を10 μL添加しました。親水性成分の抽出溶媒として、水：メタノール：クロロホルム=1：2.5：1の混合溶媒を500 μL添加し、37℃にて30分間振とうしました。その後、遠心分離 (4℃, 3000 g, 10 min) し、上相 (水 / メタノール相) を450 μL分取しました。超純水400 μLを添加して、よく混和させてから再度5分間遠心分離し、上清を500 μL採取しました。その後、遠心エバポレータにてメタノールを気化させた後、凍結乾燥にて十分に乾固させました。乾固後の残渣に、メトキシアミン-ピリジン溶液 (20 mg/mL) を200 μL添加し、30℃で90分振とうしました。続いてN-Methyl-N-(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (MSTFA) を100 μL加えて37℃で30分振とうし、分析用サンプルとしました。GC-MS/MSの測定は、475成分のMRM一斉分析が可能なSmart Metabolites Databaseを使用しました。測定条件を表1に示します。

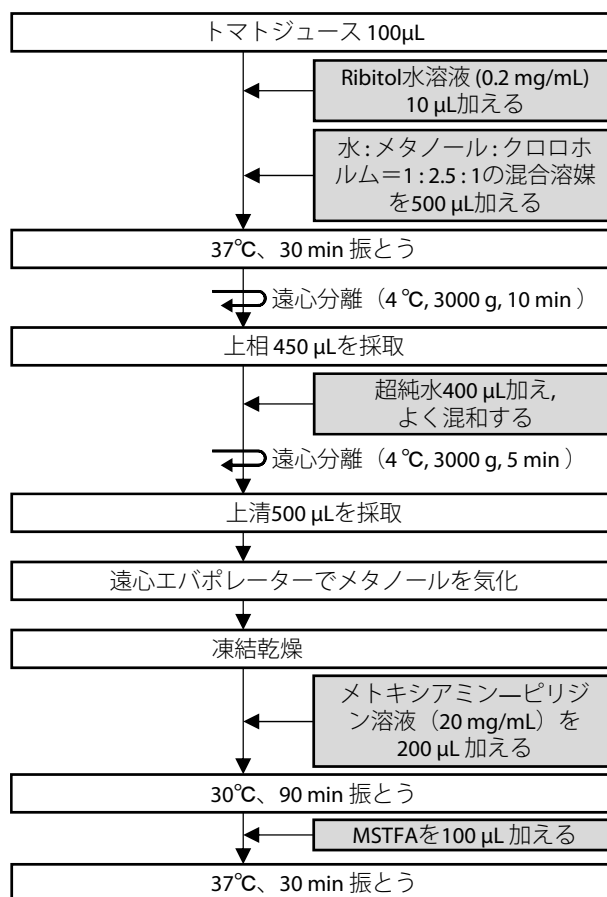


図1 サンプルの前処理ワークフロー

表1 測定条件

GC-MS:	GCMS-TQ™8040 NX
オートインジェクタ:	AOC-20i + s
カラム:	BPX-5 (Length 30 m, 0.25 mm I.D., df=0.25 μm)
[GC]	
気化室温度:	250 °C
カラムオープン温度:	60 °C (2分) ⇒ (15°C/分) ⇒ 330 °C (3分)
注入モード:	スプリット
スプリット比:	30
キャリアガス:	He
キャリアガス制御:	39.0 cm/秒 (線速度一定)
注入量:	1 μL
[MS]	
イオン源温度:	200 °C
インターフェイス温度:	280 °C
データ採取モード:	MRM
ループタイム:	0.25秒

■結果

代表的な例としてサンプル1のクロマトグラムを図2に示します。トマトジュースの各検体からは、GlucoseやFructoseを始めとした糖類、GABAなどのアミノ酸、有機酸、核酸や飽和脂肪酸など113種類の成分が検出されました(表2)。

これらの検出された成分に関して、多変量解析ソフトウェアTraverse MS (Reifycs社)を用いて多変量解析を行いました。解析には各サンプルごとに3回取得したデータを使用し、各サンプルで検出された化合物の強度はRibitolを内部標準物質として正規化しました。使用したトマトジュースはサンプル1~3としました。サンプル1のみ食塩が添加されており、サンプル3は、使用品種を特長として販売されているプレミアム系商品でした。

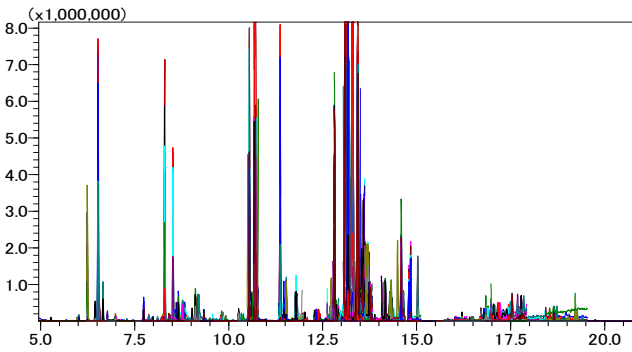


図2 トマトジュース (サンプル1) の分析結果

表2 トマトジュースから検出された成分

糖	アミノ酸	その他 (有機酸、アミンなど)
Arabitol	2-Aminobutyric acid	2-Aminoethanol
Erythritol	2-Aminopimelic acid	2-Hydroxyglutaric acid
Erythrulose	3-Aminoglutaric acid	2-Ketobutyric acid
Fructose	3-Aminoisobutyric acid	2-Ketoglutaric acid
Fructose	3-Aminopropanoic acid	3-Hydroxybutyric acid
Galactose	4-Aminobutyric acid (GABA)	3-Hydroxyisovaleric acid
Galacturonic acid	5-Oxoproline	3-Hydroxypropionic acid
Glucaric acid	5-Aminovaleric acid	Aconitic acid
Glucosamine	Alanine	Allantoin
Glucose	Anthranilic acid	Benzoic acid
Glucuronic acid	Arginine	Caproic acid
Glyceric acid	Asparagine	Citramalic acid
Glycerol	Aspartic acid	Citric acid
Inositol	Glutamic acid	Fumaric acid
Lyxose	Glycine	Glycolic acid
Maltose-meto	Histidine	Hypotaurine
Psicose	Homoserine	Isocitric acid
Rhamnose	Isoleucine	Lactic acid
Ribulose	Leucine	Lauric acid
Trehalose	Lysine	Maleic acid
Xylose	Methionine	Malic acid
Xylulose	O-Acetylserine	Malonic acid
	Ornithine	Mesaconic acid
糖リン酸	Phenylalanine	Methylsuccinic acid
3-Phosphoglyceric acid	Proline	Niacinamide
Dihydroxyacetone phosphate	Saccharopine	Nicotinic acid
Fructose 6-phosphate	Serine	O-Phosphoethanolamine
Glucose 6-phosphate	Threonine	Oxalic acid
Glycerol 3-phosphate	Tyrosine	Palmitic acid
Mannose 6-phosphate	Tryptophan	Phosphoric acid
Ribose 5-phosphate	Valine	Protocatechuic acid Putrescine
Sedoheptulose 7-phosphate		Pyrogallol
	核酸	Pyruvic acid
	Adenine	Ribonolactone
	Adenosine	Stearic acid
	Adenosine monophosphate	Succinic acid
	Guanine	Tartaric acid
	Guanosine	Threonic acid
	Hypoxanthine	Tryptamine
	Inosine	Urea
	Uracil	Uric acid
	Uridine	
	Xanthosine	

トマトジュース 3 種類から得られたデータを主成分分析 (Principal Component Analysis : PCA) 及び、階層クラスタ分析 (Hierarchical Clustering Analysis : HCA) を行った結果をそれぞれ図3および図4に示します。PCAのScore PlotとHCAによる樹形図から、各サンプルを明確に区別できることが確認されました。

また、階層クラスタ分析のHeat Mapにより、サンプル3は他の2つのトマトジュースと比較して多数の成分が相対的に多く含まれる傾向にあり、サンプル1では相対的に少ない傾向がありました。トマトジュース1と2についても、Heat Map上では、他のサンプルと比較して相対的に多く含まれる成分も確認されました。

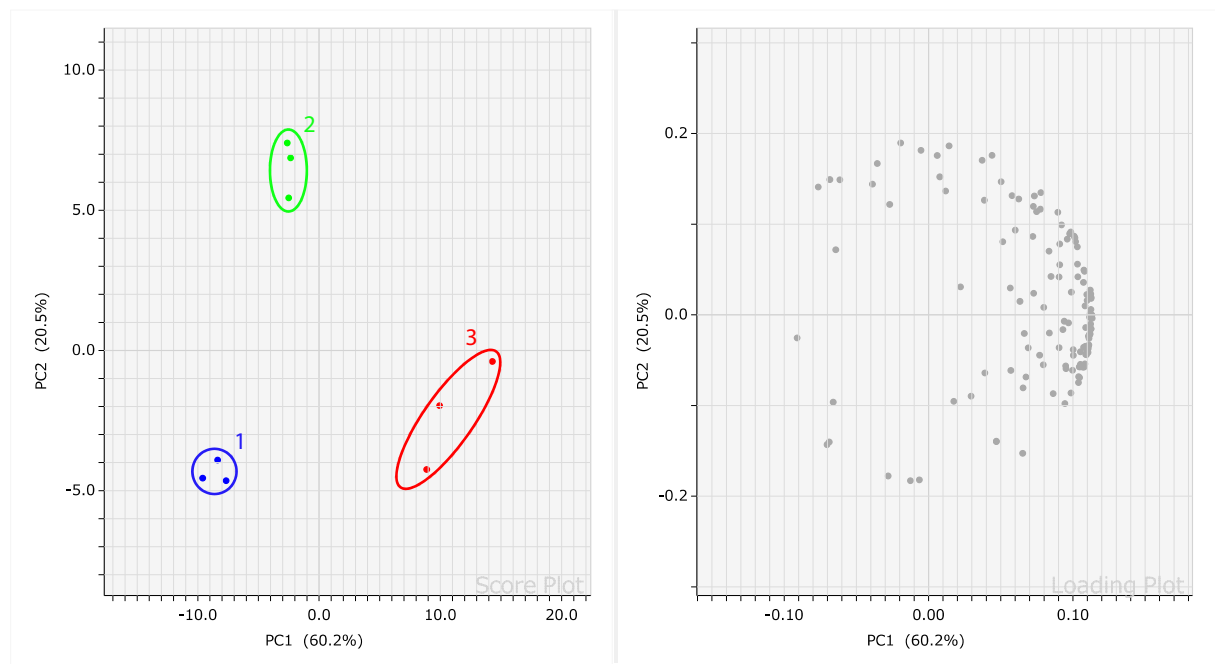


図3 主成分分析 (PCA)
左 : Score Plot、右 : Loading Plot

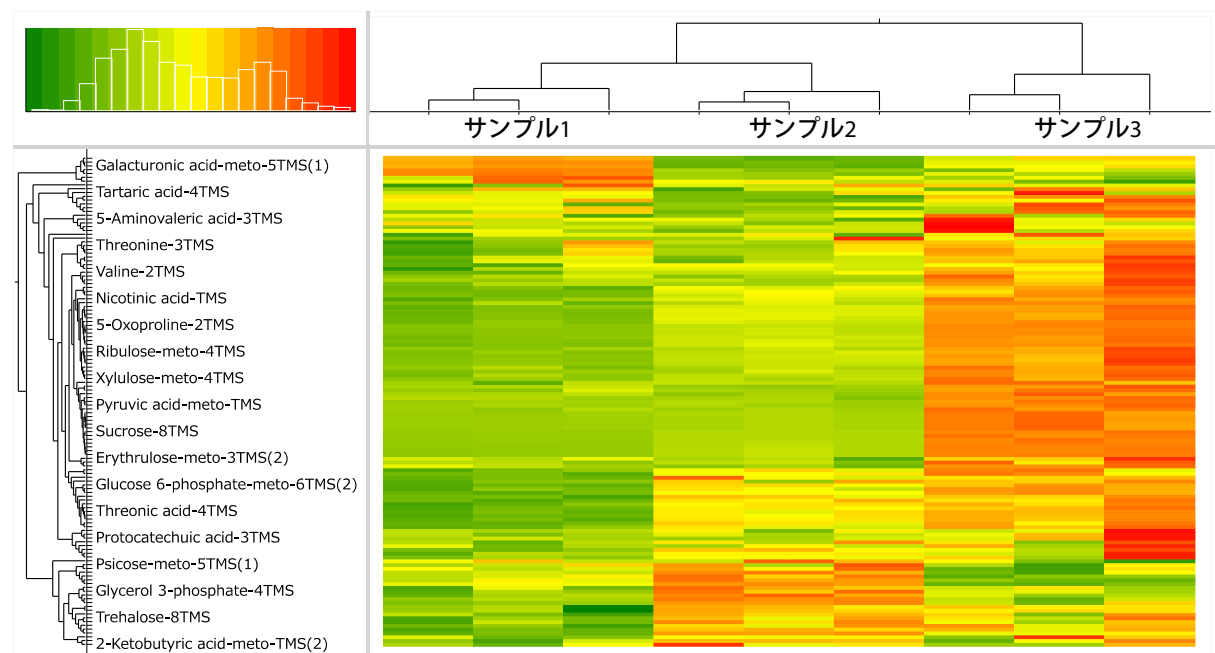


図4 階層クラスタ分析 (HCA) による樹形図とHeat Map
各成分ごとの相対的な検出量をグラデーション表記しております。赤色ほど多く、緑色ほど少なくなっております。

各サンプルで特徴的な成分を詳細に確認するために、ANOVA検定による解析を行いました。p-value < 0.01の成分に関して、各サンプルで特徴的な成分の解析結果を図5に示します。サンプル1では、植物細胞壁の構成成分として知られるGalacturonic acidが相対的に他のサンプルよりも多い傾向にあり、サンプル2では、旨味成分であるAdenosine monophosphateを始め、Glycine、Asparagine等が多い傾向にありました。

多くの成分が相対的に多く検出されたサンプル3においては、Sucroseや酸味成分であるCitric acidが顕著に多く含まれておりました。機能性成分としてよく知られている4-Aminobutyric acid (GABA)、Glucosamine、OrnithineやビタミンB3 (NicotinamideやNicotinic acid)が、各トマトジュースから検出されており、それらの成分に関してもサンプル3に最も多く含まれていました。

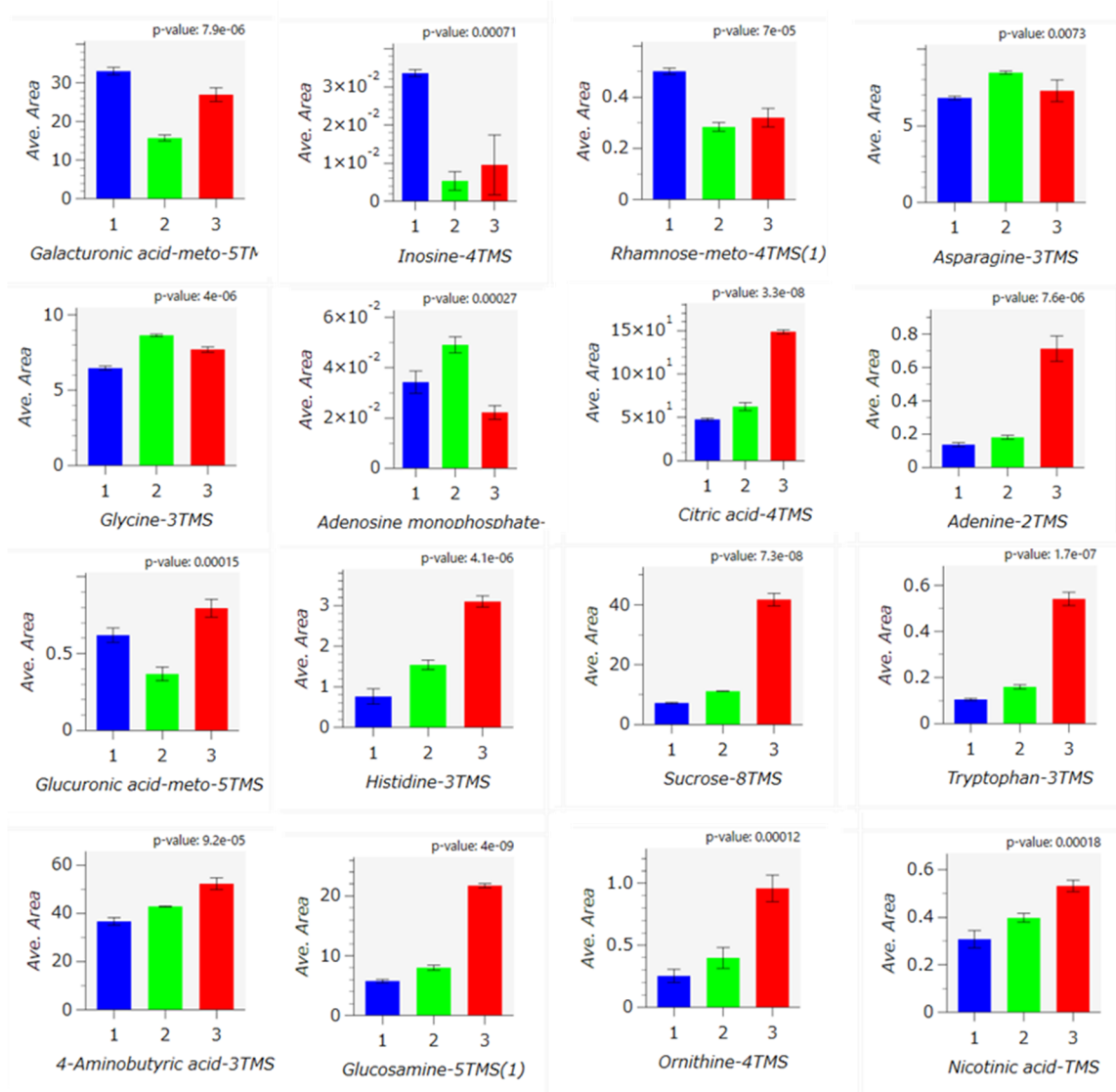


図5 トマトジュース3種類での分散分析 (ANOVA)
(p<0.01の成分の一部のみを記載しております。
棒グラフはクラス内平均、エラーバーはクラス内標準偏差)

■まとめ

Smart metabolites Databaseを用いた親水性成分の一斉分析と多変量解析により、トマトジュースの製品間に特徴的な成分を探索することが出来ました。味や風味などの官能的な評価と組み合わせることで、市場のニーズにマッチした製品開発に役立てる可能性があります。

GCMS、GCMS-TQ、Smart Metabolites Databaseは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。
Traverse MSは、ライフィクス株式会社の商標です

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

初版発行：2020年11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club に登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

© Shimadzu Corporation, 2020