

GC-MS GCMS-TQ™8050 NX

# Smart Metabolites Database™と Smart Aroma Database™を用いた代替食品 開発に資する成分データ解析

谷口 百優、東 祐衣

## ユーザーベネフィット

- ◆ Smart Metabolites DatabaseおよびSmart Aroma Databaseを用いることで食品中の幅広い成分を効率よく解析できます。
- ◆ 成分データと官能評価データとの統合解析により食品の味や匂いのデザインをサポートします。

## ■はじめに

高級食材やアレルギー食材の代用として代替食品は高いニーズがあります。また近年、食料生産における環境負荷の低減や健康意識の向上を背景として、その市場はさらに拡大しています。代替食品には、例えばカニを模したカニかまぼこ（カニカマ）、ビールを模した発泡酒、牛肉を模した大豆肉や培養肉などがあります。食品開発においては、官能評価と呼ばれる人の味覚や嗅覚を使った評価が活用されています。しかしながら、官能評価者が知覚したことを定性的かつ定量的に表現することは高いスキルを要します。そこで、機器分析による成分データも併せて活用した食品開発が期待されています。本稿では、代替食品の一例であるカニカマを題材として成分データを活用した代替食品開発の手法を提案します（図1）。

## ■ Smart Metabolites Database

Smart Metabolites Databaseは、約600種類の親水性の低分子代謝物についてGC-MSを用いた一斉分析ができるデータベースです。メタボロミクス（生物の代謝物を網羅的に解析する技術）を実施したいユーザー向けのデータベースで、食品分野においてはアミノ酸、有機酸、糖などの呈味に関連する成分の情報が得られます。サンプル分析前に、*n*-アルカン標準試料を用いた保持時間修正を行うだけで、分析メソッドを作成することができ、得られたクロマトグラムから登録されている成分を自動同定します。

## ■ Smart Aroma Database

Smart Aroma Databaseは、約500種類の香気成分を分析できるデータベースです。食品や飲料などの香気に重要な成分の分析に必要な情報が登録されています。Smart Metabolites Databaseと同様に*n*-アルカン標準試料を分析するだけで分析メソッドを作成でき、成分を自動同定します。香気成分を捕集するための種々のサンプルに対応しており、AOC-6000シリーズ、TD-30シリーズ、HS-20シリーズ、OPTIC-4での運用をサポートします。

## ■ 多変量解析

主成分分析（Principal component analysis; PCA）は、サンプル間の類似や差異を可視化するのに有効な解析手法です。たくさんの定量的な説明変数から合成変数をつくり、より少ない変数に要約します。今回の実験では成分データを説明変数として使用します。質量分析計で得られた膨大な成分データをPCAに供することで、低次元に圧縮してプロット図で表します。

PLS回帰分析（Partial least squares regression analysis）は、説明変数と目的変数の相関関係を解析するのに有効な手法です。成分データを説明変数、官能評価データを目的変数とすることで、各成分と官能評価データとの相関の大きさを解析することができます。今回の実験では、多変量解析ソフトSIMCA®17（インフォコム社）を用いました。

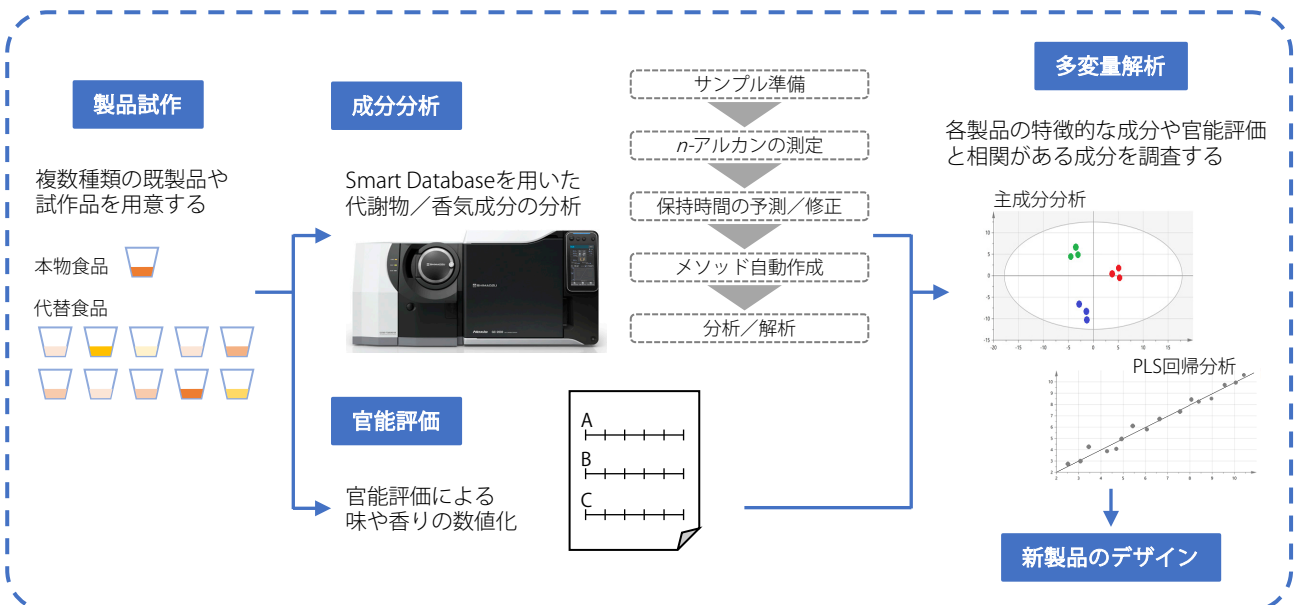


図1 成分データを用いた食品開発のイメージ

## ■ カニカマとズワイガニの代謝物分析

代替食品カニカマ（製品A、B、C）と本物食品ズワイガニに含まれる呈味成分を解析するため、Smart Metabolites Databaseを用いて親水性低分子代謝物を分析しました。サンプル前処理は、Smart Metabolites Databaseに付属する「メタボロミクスハンドブック」を参照し、以下の通りに行いました。サンプル100 mgを秤量した後、水、メタノール、クロロホルムの混合溶液を用いて代謝物抽出およびタンパク質や脂質の除去を行いました。さらにGC-MSは気化したサンプルの分析に適しているため、難揮発性代謝物を気化しやすい状態にするための誘導体化を行いました。誘導体化試薬としてメトキシアミンと*N*-トリメチルシリルトリフルオロアセトアミド (MSTFA) を用いました。表1に使用した装置や分析条件を示しました。得られた74成分のピーク面積値を主成分分析に供しました。図2にスコアプロットとローディングプロットを示しました。スコアプロットは説明変数を要約した合成変数（主成分）に対する各サンプルのスコアを表し、サンプル間の差異を可視化することができます。一方でローディングプロットは各説明変数（成分）の合成変数に対する重みを表し、スコアプロット結果と合わせて確認することで、各サンプルの差に起因する特徴的な成分を確認することができます。第一主成分（PC1）と第二主成分（PC2）でデータの約80%を説明することができ、カニカマとズワイガニとの差異や、カニカマ製品間の差異を捉えることができました。第一主成分軸の正側にはズワイガニ、負側にはカニカマ3製品がプロットされており、第一主成分はズワイガニとカニカマとの差異を表しています。第二主成分軸の負側にはカニカマ製品B、正側にはその他のサンプルがプロットされており、第二主成分はカニカマ製品Bとその他のカニカマ製品やズワイガニとの差異を表しています。また、カニカマ製品Aと製品Cは、近接してプロットされたことから、これら2製品の代謝物プロファイルが類似していたことがわかりました。

対応するローディングプロットからは、各サンプルに特徴的な成分がわかります。第一主成分軸の正側には、アデニン、ピルビン酸、プロリン、アデノシンなどがプロットされており、これらの成分はカニカマと比較してズワイガニに多く含まれることがわかりました。第二主成分軸の正側には、バリン、イソロイシン、フェニルアラニン、ロイシンなどのアミノ酸が多くプロットされており、カニカマ製品Bには他の2製品やズワイガニと比較して、これらのアミノ酸の含有量が少ないことがわかりました。

表1 Smart Metabolites Databaseを使用した分析条件

GC-MS	: GCMS-TQ8050 NX
オートサンブラ	: AOC-20i / 20s
カラム	: BPX5 (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 μm)
[GC条件]	
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	: 線速度 (39.0 cm/sec)
注入量	: 1 μL
気化室温度	: 250 °C
カラムオープン温度	: 60 °C (2 min) → 15 °C/min → 330 °C (3 min)
[MS条件]	
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	: Scan ( <i>m/z</i> 45–600)
イベント時間	: 0.3 sec

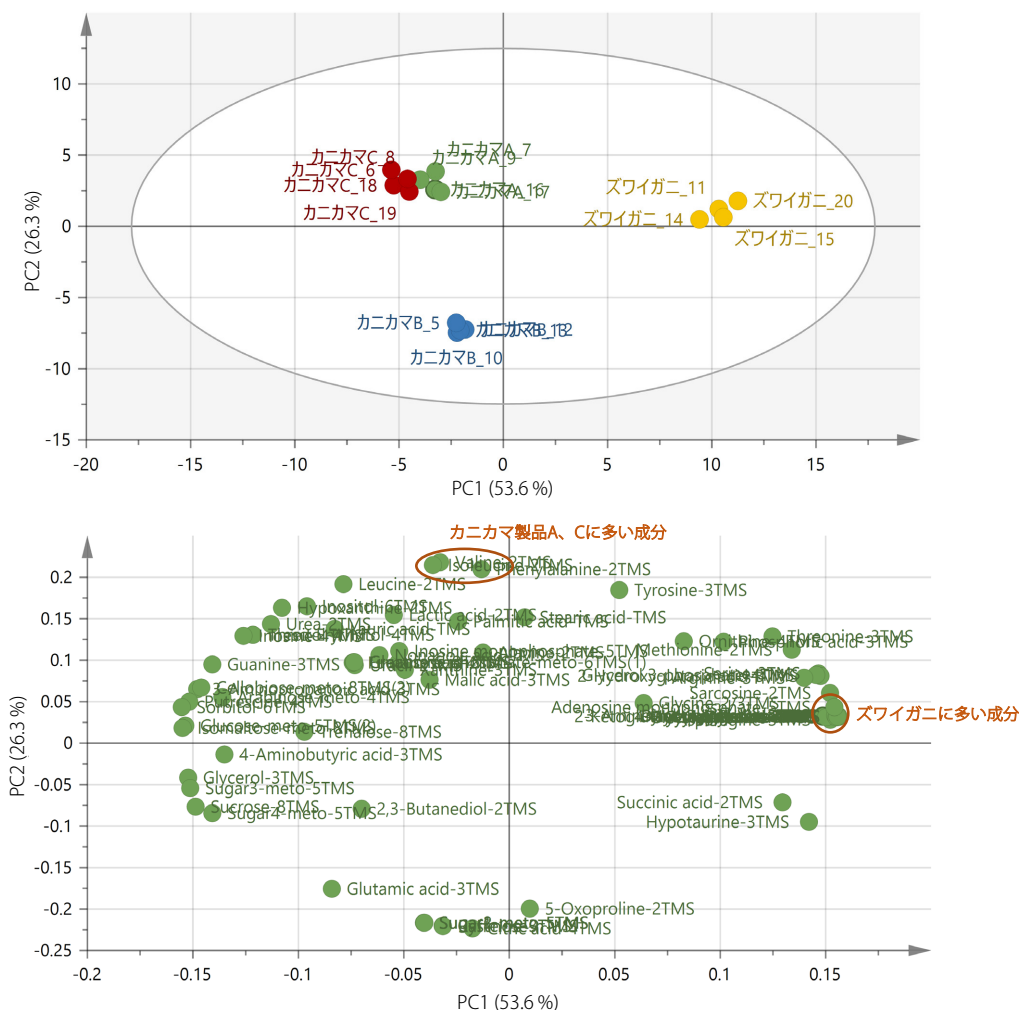


図2 Smart Metabolites Databaseで得た代謝物データを主成分分析に供した際のスコアプロット（上）とローディングプロット（下）

## ■ カニとカニカマの香気成分分析

代替食品カニカマ（製品A、B、C）と本物食品ズワイガニに含まれる香気成分をSmart Aroma Databaseを用いて分析しました。また、測定対象とする成分種の更なる拡充のため、化合物の同定にSmart Aroma Databaseに加えて、GC/MS異臭分析システムのデータベースも併せて使用しました。サンプル2gを20 mLバイアルに移し、SPME Arrowを用いてヘッドスペース部の香気成分を捕集しました。多機能オートサンプリングシステムAOC-6000 Plusを用いてバイアル加温、抽出、試料導入を自動で行いました。使用した装置および分析条件を表2に示しました。得られた64成分のピーク面積値を主成分分析に供しました。図3にスコアプロットとローディングプロットを示しました。第一主成分（PC1）と第二主成分（PC2）でデータの約70%を説明することができ、カニカマとズワイガニとの差異や、カニカマ製品間の差異を捉えることができました。第一主成分軸の正側にはズワイガニ、負側にはカニカマ3製品がプロットされており、第一主成分はズワイガニとカニカマとの差異を表しています。第二主成分軸の正側にはカニカマ製品B、負側にはその他のサンプルがプロットされており、第二主成分はカニカマ製品Bとその他のカニカマ製品やズワイガニとの差異を表しています。対応するローディングプロットの第一主成分軸の正側には、2-メチルチオフェン、テトラデカナール、1-オクテン-3-オールなどがプロットされており、これらの成分はカニカマと比較してズワイガニに多く含まれることがわかりました。第二主成分軸の負側には、トリメチルピラジンやドデカナールがプロットされており、カニカマ製品Bには他の2製品やズワイガニと比較して、これらの成分が少ないことがわかりました。

表2 Smart Aroma Databaseを使用した分析条件

GC-MS	: GCMS-TQ8050 NX
オートサンブラ	: AOC-6000 Plus
カラム	: InertCap Pure-WAX (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 μm)
[SPME Arrow条件]	
SPME Arrow	: DVB/Carbon WR/PDMS (長さ20 mm 外径1.1 mm 膜厚120 μm)
Conditioning temp.	: 250 °C
Pre conditioning time	: 15 min
Incubation temp.	: 80 °C
Incubation time	: 5 min
Stirrer speed	: 250 rpm
Sample extract time	: 30 min
Sample desorb time	: 2 min
[GC条件]	
注入モード	: スプリット
スプリット比	: 5
キャリアガス	: He
キャリアガス制御	: 圧力 (83.5 kPa)
気化室温度	: 250 °C
カラムオープン温度	: 50 °C (5 min) → 10 °C/min → 250 °C (10 min)
[MS条件]	
イオン源温度	: 200 °C
インターフェイス温度	: 250 °C
データ採取モード	: Scan (m/z35-400)
イベント時間	: 0.3 sec

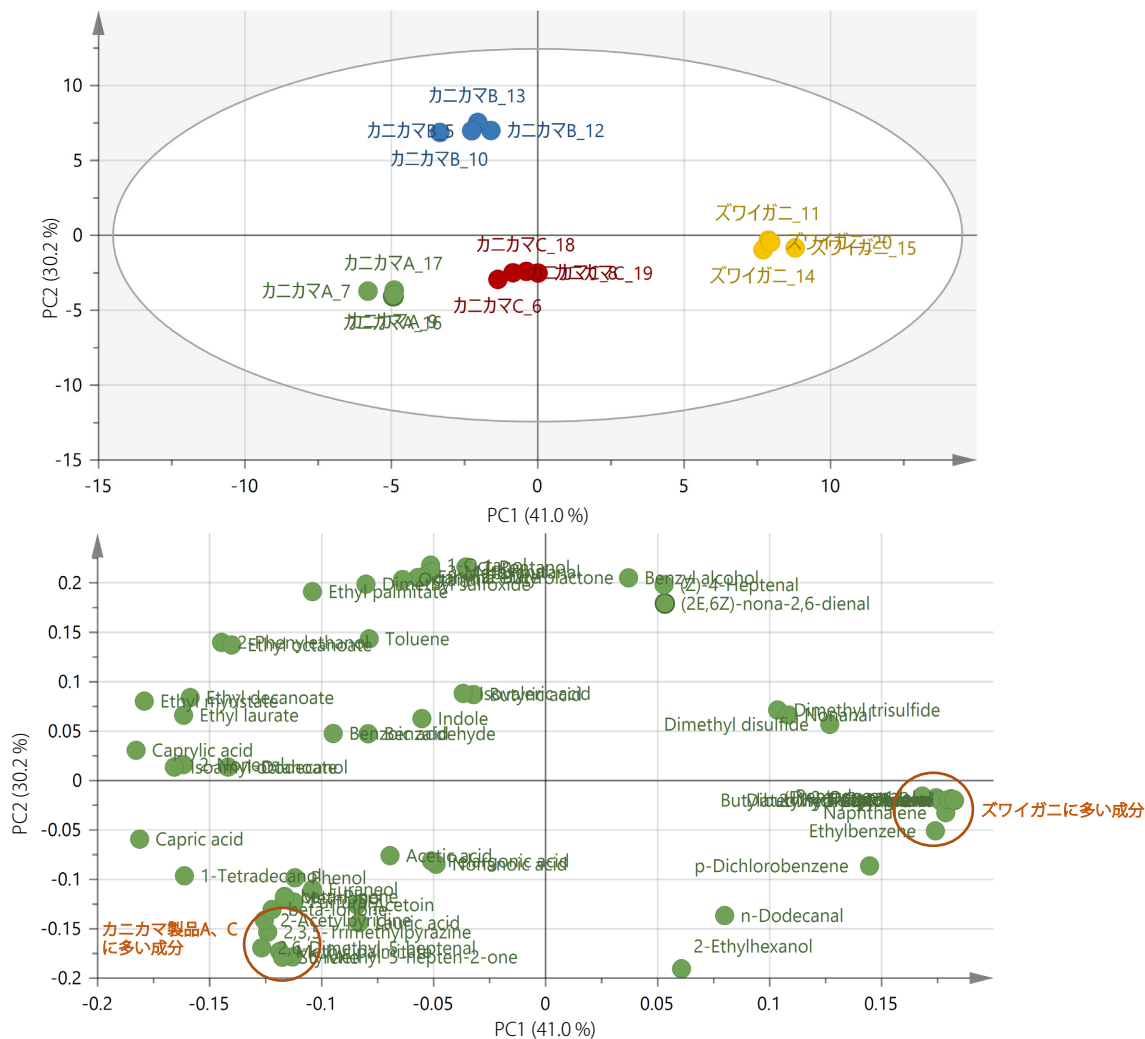


図3 Smart Aroma Databaseで得た香気成分データを主成分分析に供した際のスコアプロット（上）とローディングプロット（下）

## ■官能評価との相関解析

今回の実験では、本物食品らしい代替食品の開発を想定しているため、カニらしさを数値化したものを目的変数としました。弊社社員10名（年齢20～50代の男女）でカニカマ3製品の味や香りを評価し、カニらしさを1（カニらしくない）～10（カニ同等）の10段階で採点しました。成分プロフィールと官能評価結果との相関解析はPLS回帰分析を用いて行いました。図4は、潜在変数が2つの場合の回帰式です。直線性 $R^2$ 値、および予測性 $Q^2$ 値はそれぞれ0.99、0.96であり、本物食品らしさの官能評価データと成分データとの間に高い相関関係があることが示されました。PLS回帰分析では、各成分の相関係数やVIP（Variable importance in projection）値から目的変数との相関や回帰式構築における重要度を評価できます。表3に相関係数が大きかった成分とそのVIP値を示しました。カニや官能評価でカニらしいと判断されたカニカマには、表3左側に示したカニらしさに正に相関する成分が多く、表3右側に示したカニらしさに負に相関する成分が少ないことがわかりました。より本物食品らしいカニカマへと改良するには、これらの成分の含有量が重要である可能性が示唆されました。

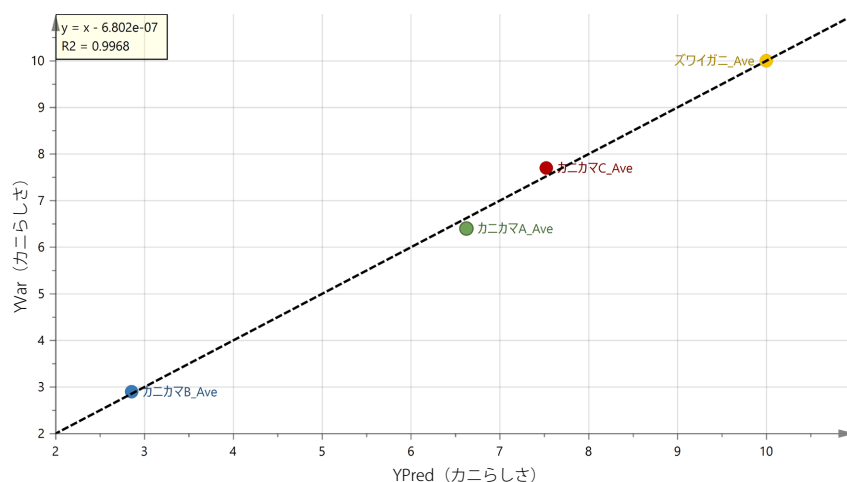


図4 説明変数を成分データ、目的変数を官能評価データとしたPLS回帰

表3 カニらしさに高い相関を持った成分

カニらしさに正に相関する成分			カニらしさに負に相関する成分		
成分名	VIP値	分類	成分名	VIP値	分類
Dodecanal	1.14	Aroma	Ethyl palmitate	1.34	Aroma
Stearic acid-TMS	1.20	Metabolites	Glutamic acid-3TMS	1.34	Metabolites
Phosphoric acid-3TMS	1.24	Metabolites	2-Phenylethanol	1.29	Aroma
Threonine-3TMS	1.32	Metabolites	Ethyl octanoate	1.26	Aroma

### <謝辞>

本測定を行うにあたりご協力いただいた大阪大学大学院工学研究科 福崎英一郎教授、大阪大学・島津分析イノベーション協働研究所 飯田順子教授に感謝いたします。

GCMS-TQ、Smart Metabolites Database、およびSmart Aroma Databaseは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

## 株式会社 島津製作所

01-00401-JP 初版発行：2022年 7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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。  
<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員情報サービス Shim-Solutions Club に登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022

▶ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ GCMS-TQ™8050  
NX

トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計



▶ Smart Metabolites  
Database™ Ver.2

GC-MS(/MS)代謝物分析用データベース



▶ Smart Aroma  
Database™

GC-MS(/MS)香気分析用データベース

## 関連分野

▶ 食品・飲料

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ