

## 代替肉の総合品質評価

坂井 健朗、内田 忍

### ユーザーベネフィット

- ◆ LC-MSを用いて、一次代謝物や糖など、食品の味に関連する化合物の一斉分析を行うことができます。
- ◆ GC-MSを用いて、食品の香りに関連する化合物の一斉分析を行うことができます。
- ◆ テクスチャーアナライザ（小型卓上試験機）を用いて、食品の食感の解析を行うことができます。
- ◆ 多変量解析により、これらの情報を統合して食品の総合的な品質評価を行うことができます。

### ■はじめに

持続可能で健康的なライフスタイルへの興味の高まりを背景に、世界中で代替肉が注目されています。代替肉の需要は増加傾向にあり、これまで以上にその風味における品質を厳密に問われる時代になりつつあります。しかし、食物における味や香りはさまざまな化合物の複雑な組み合わせの結果生じるものであり、その品質を厳密に測定することは多くの場合困難を伴います。このような複雑な系を持つ風味という概念を紐解くツールの一つに、代謝物や香気成分の網羅分析があります。LC-MSやGC-MSを用いれば、このような味や香りに影響を与える親水性の代謝物や香気成分の測定が可能です。

また、食品の品質やおいしさを判断する材料となるのは味と香りだけではありません。噛んだ時の食感もまた、食肉を模した食品においては特に、品質の判別における重要な要素です。適切な治具を装着したテクスチャーアナライザ（小型卓上試験機）を用いれば、硬さをはじめとした食感を測定することができます。

味、香り、食感それぞれ独立した要素であるため、それぞれ別々に解析することが可能ですが、このようなデータを横断的に解析して「総合的な品質」を追求したい場合もあります。多変量解析を用いれば、各サンプルのデータを元に、サンプル同士の「距離」を可視化することができます。このように、各測定機器のデータを横断的に解析することで、「品質」というあいまいな指標を、より客観的に議論することが可能になります。

ここでは、米国市場で流通している4種類の代替肉製品に関して、味、香り、食感のデータを取得し、簡単な多変量解析を用いて本物の牛ひき肉との「距離」を可視化しました。

### ■ サンプル

米国市場にて流通している牛ひき肉とそれを模した代替肉製品を4種類購入し、加熱した状態のものをサンプルとして使用しました（製品1-4）。



Nexera™ シリーズ LC + LCMS™-8050



AOC-6000 Plus +  
GCMS-TQ™ 8040 NX



テクスチャーアナライザ  
EZ Test™

### ■ LCMSによる親水性化合物の分析

LC-MSは味に関係の深い親水性の化合物を網羅的に測定できる装置の一つです。

#### <サンプル調製>

よく加熱調理した製品サンプルを100 mg取り（加熱調理の方法については試験機による分析の項を参照）、マイクロチューブに導入しました。0.75 mLのメタノールと5 mm直径のジルコニアボールを同チューブに入れ、ボールミルで粉碎処理しました。遠心処理の後、残滓をろ過処理した上清をストック溶液として-20℃で保管しました。サンプル溶液は、マトリクスエフェクトを抑えるために、ストック溶液を水で5000倍に希釈したものを使用しました。

#### <LC-MS分析>

LC/MS/MS メソッドパッケージ一次代謝物ver.2をベースにメソッドを作成しました。このメソッドパッケージは、97種類の親水性化合物を同時測定できるメソッドです。

表1 LC-MSの分析条件（親水性化合物）

装置	LCMS-8050
カラム	Discovery® HS F5-3 15 cm × 2.1 mm、3 μm
移動相A	0.1 % Formic acid in Water
移動相B	Acetonitrile
分析モード	MRM

今回対象としたのは55種類の親水性化合物で、希釈によりマトリクスエフェクトがほぼ解消され、回収率が概ね80-120 %の範囲になることを確認しました。これにより各化合物のピーク面積値は、各サンプル中のおよその濃度値の相対値と考えることができます。測定結果の例として、製品1におけるGlutamic AcidとInosineのクロマトグラムを図1の上段に示します。また、それぞれ製品における面積値の比較を図1の下段に示しました。

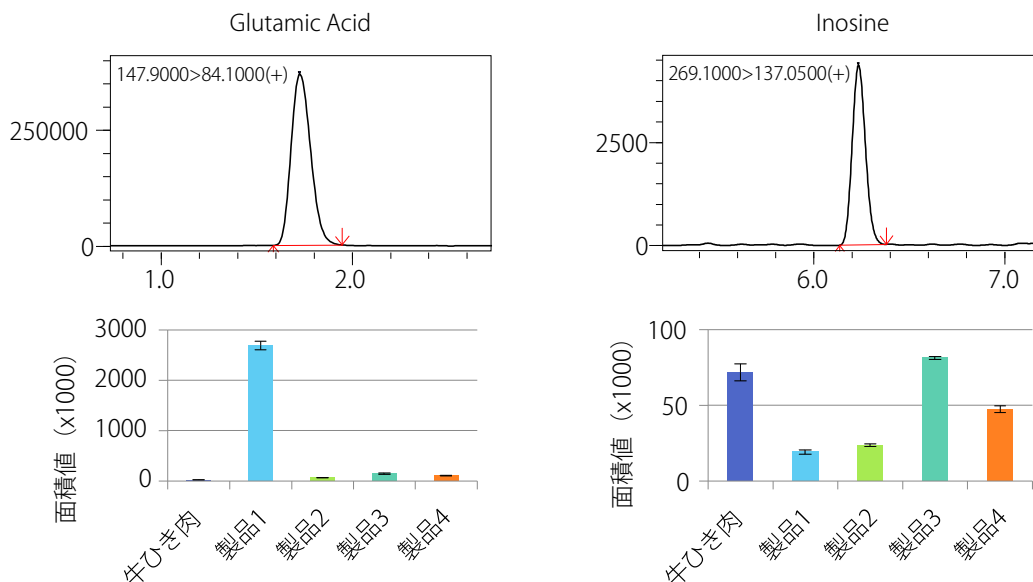


図1 製品1中のGlutamic AcidとInosineのクロマトグラム（上段）とGlutamic AcidとInosineのピーク面積値のサンプル間比較（下段）

## ■ LCMSによる糖類の分析

糖類の分析も、LC-MSで行うことができます。

### <サンプル調製>

親水性の化合物と同じ前処理でストック溶液まで調製しました。サンプル溶液は、ストック溶液をアセトニトリルで500倍希釈することで調製しました。

### <LC-MS分析>

メソッドは表2の条件で作成しました。

表2 LC-MSの分析条件（糖類）

装置	LCMS-8050
カラム	Asahipak NH2P-50 2D、100 Å、5 μm、2 × 150 mm
移動相A	Water
移動相B	Acetonitrile
分析モード	MRM

各サンプルとも6種類の糖が検出されました。こちらの分析ではマトリクスエフェクトを完全に排除することができなかったため、標準添加法にて各化合物の濃度を直接評価しました。図2に示すとおり、いくつかの糖化合物において、サンプル間で大きな違いがあることが明らかになりました。

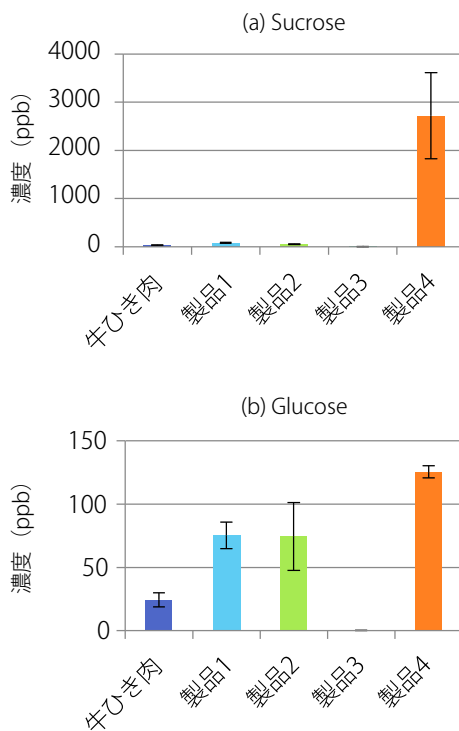


図2 サンプル間の (a) Sucrose と (b) Glucose の濃度値の比較

## ■ GC-MS による香気成分の分析

GC-MSは香気成分の網羅分析に適した装置です。今回の分析では、香気成分の吸着に固相マイクロ抽出 (Solid Phase Micro Extraction: SPME) を用いました。

### <サンプル準備>

20 mLのスクリーキャップバイアルに20 mgのサンプルを導入しました。

### <GC-MS 分析>

多機能オートサンプラーAOC-6000を用いて、GCMS-TQ8040 NXで分析を行いました。サンプルは200℃で15分間焼成し、SPMEファイバーに10分間吸着させました。サンプルの焼成から、SPMEファイバーのコンディショニング、香気成分の吸着/抽出、脱着、インジェクション後のコンディショニングまで、AOC-6000ですべて自動化することができます。

表3 GC-MSの分析条件

装置	GCMS-TQ8040 NX+ AOC-6000
SPME ファイバー	Divinylbenzene/Carboxen/ Poly-dimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS)
カラム	SH-Rxi™-5MS、30 m × 0.25 mm、0.25 μm
キャリアガス	ヘリウム
分析モード	スキャン (m/z: 35 - 500)

図3に示したとおり、各サンプルとも多くのピークが検出されましたが、そのうち各サンプルで共通して検出されているピークもありました。そういったピークの中で再現性良く検出されているものを選び、そのスペクトルを市販のスペクトルライブラリで検索しました。類似度が高かったものについて、サンプル間の面積値の比較を行いました。GC-MS分析の、特に香気分析では一般的に大きなマトリクスエフェクトは発生しないので、このピーク面積値は、その化合物のおおよそのサンプル中の濃度比として捉えることができます。検出された化合物の例として、2つのピーク

## ■ テクスチャーアナライザによる食感の評価

### <サンプル準備>

上底および下底の直径がそれぞれ2.5 cmおよび4 cm円錐台型の金属鋳型に25 gのサンプルを隙間なく詰めて成型し、200℃のオープンで20分焼成したものをサンプルとして用いました。測定はサンプルの中心温度が65℃付近で行いました。

### <食感の評価>

テクスチャーアナライザ EZ Testを用いました。

表4 テクスチャーアナライザの分析条件

装置	EZ Test
ソフト	TRAPEZIUMX™

サンプルを治具で圧縮していくときの試験力と時間を記録しました。直径10 mmの円筒形治具をサンプルに向けて定速で垂直に降下させ、サンプルに触れて試験力が発生した瞬間から記録を開始し、サンプルを貫いて再度試験力が0になるまでの試験力をプロファイルしました。図4に各製品の試験力プロファイリングを示します。大まかな形はいずれの製品でもよく似てはいるものの微妙な違いがあり、この違いは製品の食感の違いを反映しているものと考えられます。試験力の最大値は硬さを示し、大きいほど硬いこと示します。また、試験力の最大値に至るまでの時間が長いほど形が崩れにくくまとまりのある食感があることを示します。

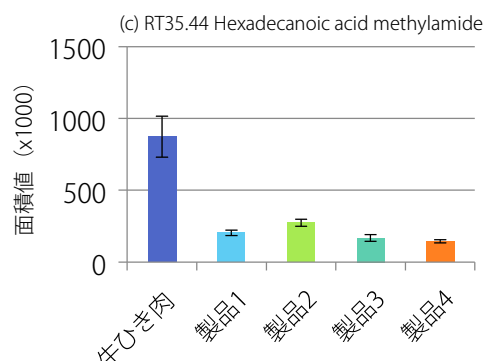
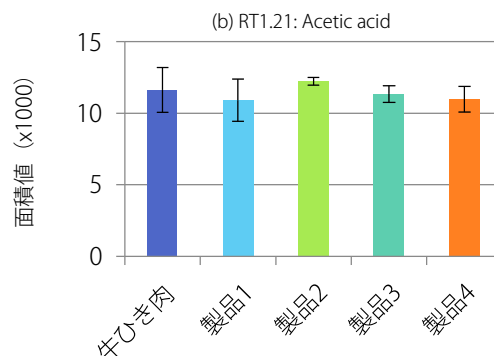
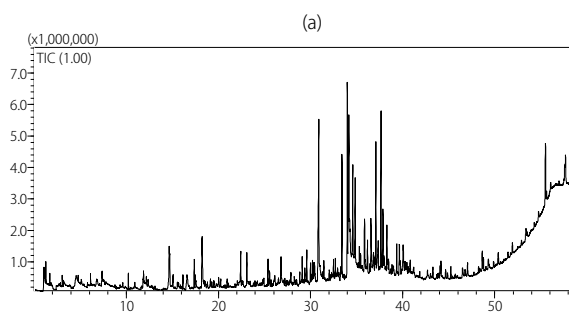


図3 (a) 牛ひき肉サンプルのトータルイオンカレントクロマトグラム。(b)、(c)それぞれ、RT1.21とRT35.44のピーク (ライブラリ検索の結果によれば、Acetic acidとHexadecanoic acid methylamide) のピーク面積値の比較

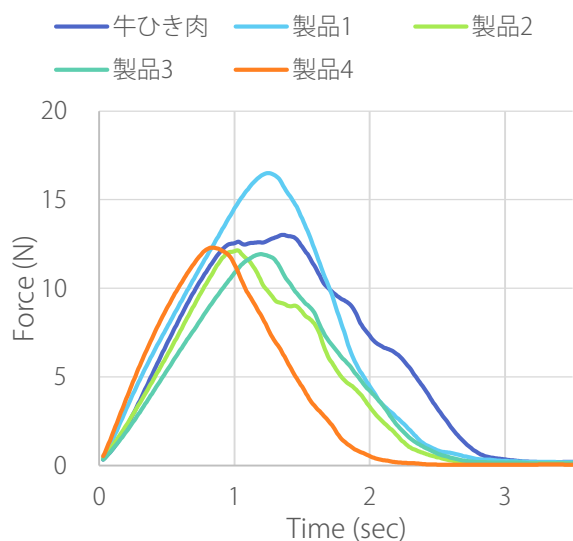


図4 牛ひき肉と代替肉製品1 - 4の試験力のプロファイリング。治具はサンプルに向けて定速で垂直に降下し、サンプルに触れて試験力が発生した瞬間から測定を開始する。サンプルに触れたのち試験力は徐々に大きくなり、やがてサンプルの形が崩壊したときに試験力ピークが形成され、その後徐々に試験力の値は下がり、完全にサンプルを貫いたときに再度ゼロになる。

## ■多変量解析

LC-MS、GC-MS、試験機のデータを統合し主成分分析を行いました。はじめに図5に示したとおり、すべてのデータを一つのテーブルにまとめました。LC-MSとGC-MSのデータではテーブル内の値はピーク面積値、試験機のデータでは試験力の強度値や時間としました。値の絶対値によるバイアスを防ぐため、各データは平均値と標準偏差を用いて標準化しました。

図6に結果のスコアプロットを示します。ここでのスコアプロットは、味、におい、食感に関する要素を取り入れた「サンプル同士の違いを表す距離」として考えることができます。つまり、データのパターンが近いほど、スコアプロット中のデータプロットの距離が近くなります。これにより、サンプル同士の類似度を客観的に評価することができます。

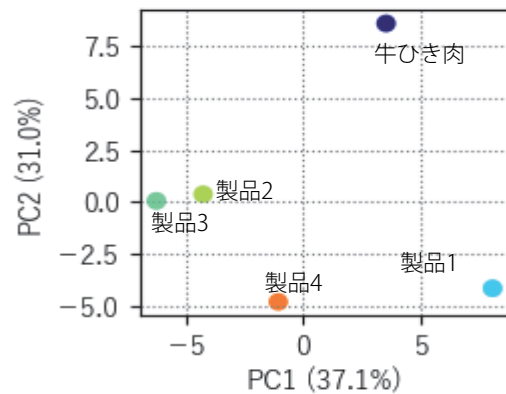


図6 主成分分析のスコアプロット

分析	項目	牛ひき肉	製品1	製品2	製品3	製品4
LC-MS (親水性化合物)	Cystine	0.00	5133.67	0.00	0.00	0.00
	Asparagine	3233.33	4662.67	5600.67	8911.00	5485.00
	Aspartic acid	8942.67	25824.67	11168.33	26395.33	12748.00
	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
LC-MS (糖化合物)	Sucrose	24.16	82.57	51.60	1.91	2718.60
	Maltose	7.15	18.74	5.77	1.20	161.06
	Lactose	8.35	25.02	18.52	0.99	67.78
	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
GC-MS	l-Alanine ethylamide	3800125.00	3194828.67	3535825.67	3851375.67	3674014.00
	Acetic acid	11625.00	10922.33	12232.00	11354.33	10993.33
	cis-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	28785.00	28580.33	39956.67	48981.33	39483.33
	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
テクスチャーアナライザ	最大試験力	16.37	16.76	12.71	13.11	12.55
	最大試験力までの時間	1.42	1.28	1.04	1.21	0.87
	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮

図5 多変量解析を行うため、すべてのデータを同じテーブルにまとめた。値は標準化前のもの。今回の実験では、全部で94の項目（行）を同時に解析した。

## ■まとめ

LC-MS、GC-MS、およびテクスチャーアナライザで、それぞれ味、におい、食感に寄与する要素の測定を行いました。加えて多変量解析により、これらの要素を反映した総合的な食品品質評価の一例を示しました。この評価は、代替肉製品だけでなく、他の多くの食品製品の品質評価に役立てられる可能性があります。

LCMS、GCMS-TQ、EZ Test、Nexera、TRAPEZIUM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。Rxiilは、Restek Corporation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** 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

02-MT-005-JP 初版発行：2021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。

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 にご登録いただきますと、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, 2021