

GC-MS GCMS-TQ™8040 NX

GC-MS用データベースを使用した ビール香気成分・代謝成分の統合解析

真保 恵美子、東 祐衣、武守 佑典

ユーザーベネフィット

- ◆ Smart Aroma Database™・Smart Metabolites Database™を用いて、香気成分・代謝成分それぞれの網羅分析が可能です。
- ◆ 多変量解析ソフトウェアSIMCA®17（インフォコム社）を用いて、同じサンプルに対し複数の分析方法で得られた2つ以上のブロックデータを、統合解析することができます。

■はじめに

食品の風味の評価は、品質管理や製品開発などに必須であり、その方法は多岐にわたります。一例として、食品中の香気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て風味・機能性の指標とするといった方法が挙げられます。

島津製作所では、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）用の各種データベースを取り揃えています。本稿では、香気成分の網羅分析にSmart Aroma Database、代謝成分の網羅分析にSmart Metabolites Databaseを使用し、市販のビール、および開発中の試験醸造ビールを分析しました。網羅分析で得られた結果を多変量解析することにより、各サンプルの特徴を可視化しました。さらに、香気成分と代謝成分の相関を調べるために、2つのデータを統合解析した例をご紹介します。

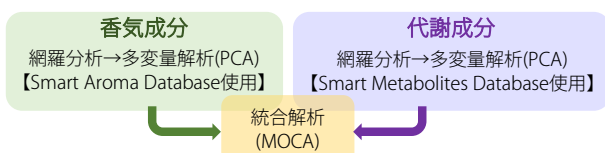


図1 本稿の解析フロー

■ Smart Aroma Database

Smart Aroma Databaseは、微量香気成分を網羅的に検出し、検出された香気成分が香りにどのように寄与するかを調べることができるデータベースです。データベースから作成したメソッドを使用することで、Scan分析のクロマトグラムから、登録された主要香気成分約500成分を同定します。また、におい情報や半定量値から、香気に寄与する成分を絞りこむことができます。

前準備として、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、簡単に網羅分析が可能です。前処理装置のHS-20 NX、AOC-30i、AOC-6000 Plus (HS、SPME、SPME Arrow)、TD-30、OPTIC-4、OP275Proなどに対応しています。

本稿で使用した、データベースの分析条件を表1に示しました。

■ Smart Metabolites Database

Smart Metabolites Databaseは、代謝成分に特化したデータベースです。Smart Aroma Databaseと同様、n-アルカン標準試料を分析するだけで、最適な条件設定が可能です。食品や生体由来サンプル中の代謝成分約600成分について、網羅分析ができます。

本稿で使用した、データベース中の分析条件を表2に示します。難揮発性である代謝成分は、誘導体化前処理を実施し揮発性にする事で、GC-MSでの分析が可能になります。誘導体化手順については、当社アプリケーションニュースM280A(LAAN-A-MS063A)をご参照ください。

表1 Smart Aroma Databaseを使用した分析条件

装置	: GCMS-QP2020 NX
オートサンブラ	: HS-20 NX
カラム	: InertCap Pure-wax (30 m × 0.25 mm I.D. 0.25 μm)
[HS条件]	Mode : Trap (トラップ管 Tenax®TA 60/80 mesh)
Oven Temperature	: 60 °C (市販ビール分析) 40 °C (試験醸造ビール分析)
Multi Injection Times	: 5
Sample Line Temperature	: 100 °C
Transfer Line Temperature	: 100 °C
Trap Cooling Temperature	: -10 °C
Trap Heating Temperature	: 280 °C
Trap Waiting Temperature	: 25 °C
Vial Pressure	: 80kPa
Dry Purge Pressure	: 60kPa
Vial Heat-retention Time	: 30 min
Vial Pressurization Time	: 1 min
Vial Pressurization Equilibrating Time	: 0.1 min
Loading Time	: 1 min
Loading Pressurization Time	: 0.1 min
Dry Purge Time	: 10 min
Injection Time	: 3 min
Needle Flush Time	: 5 min
[GC条件]	注入モード : スプリット (1 : 5)
キャリアガス	: He, 圧力一定 (83.5 kPa)
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
インターフェース温度	: 250 °C
測定モード	: Scan/SIM
イベントタイム	: 0.3 sec(Scan)、0.2 sec(SIM)
m/z range	: 35-400 (Scan)

表2 Smart Metabolites Databaseを使用した分析条件

装置	: GCMS-TQ8040 NX
オートインジェクタ	: AOC-20i+s
カラム	: DB-5MS (30m×0.25mm I.D., 1.0 μm)
[GC条件]	気化室温度 : 280 °C
注入モード	: スプリットレス
サンプリング時間	: 1 min
キャリアガス	: He, 線速度一定 (39 cm/s)
ページ流量	: 5.0 mL/min
カラムオープン温度	: 100 °C (4 min) - 10 °C/min - 320 °C (11 min)
注入量	: 1 μL
[MS条件]	インターフェース温度 : 200 °C
イオン源温度	: 280 °C
測定モード	: MRM
ループタイム	: 0.3

■市販ビール分析 ①香気成分分析

ビールの品質管理の指標とするため、アプリケーションニュース01-00317では、表3に示した銘柄の異なるビール9種類の香気成分を分析しました。Smart Aroma Databaseを用いて網羅分析したところ、143成分を同定することができました。この結果を、多変量解析ソフトSIMCA17（インフォコム社）により主成分分析（PCA）することで、それぞれの市販ビールの差異を可視化することができました（図2）。

表3 分析に使用した市販ビール試料

市販ビールサンプル		
• Ale1	• White Ale	• Lager1
• Ale2	• IPA	• Lager2
• Ale3	• Barrel Aged	• Lager3

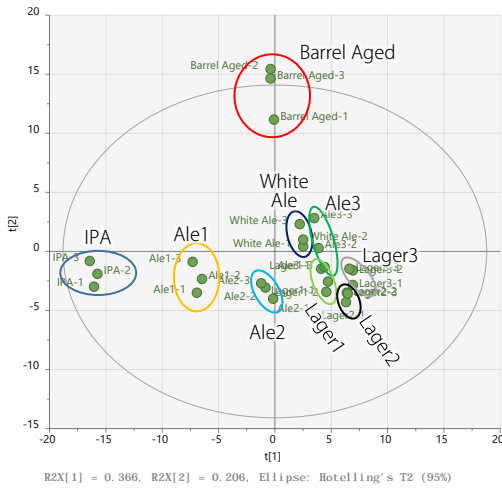


図2 市販ビール9種の香気成分分析のPCAスコアプロット

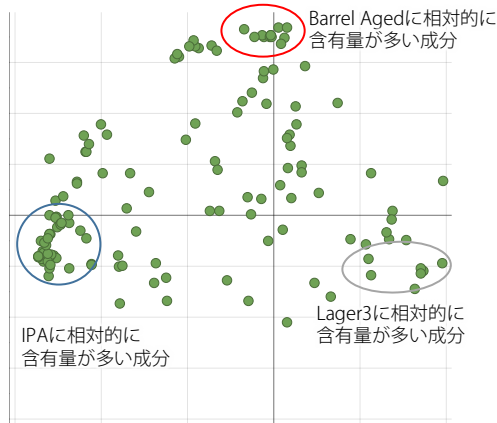


図3 市販ビール9種の香気成分分析のPCAローディングプロット

表4 各ビールに相対的に多く含有する香気成分の一部

ビールサンプル	相対的に多く含有する香気成分
Lager3	2-Methylbutyl acetate, Isoamyl acetate, 2-Phenylethyl acetate
IPA	Linalool, Geraniol, Nerol, Ethyl heptanoate, 2-Nonanol, Terpinen-4-ol
Barrel Aged	Ethyl lactate, Acetic acid, Benzaldehyde, Diethyl succinate

■市販ビール分析 ②代謝成分分析

①と同じ市販ビールサンプルを誘導体化前処理し、Smart Metabolites Databaseのメソッドを使用して網羅分析したところ、375成分が同定されました。香気成分分析と同様、PCAにより、銘柄の異なる市販ビールの代謝成分に関し、その差異を可視化することができました（図4）。

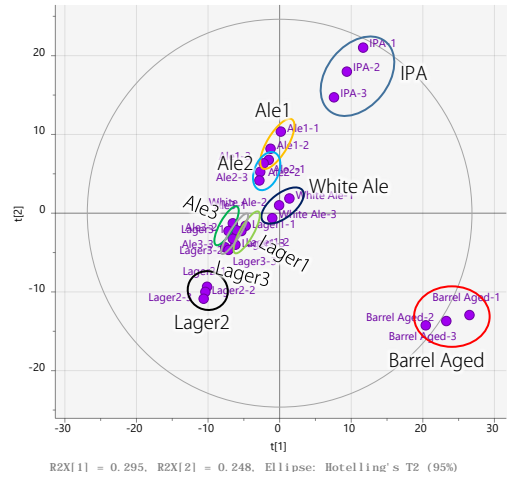


図4 市販ビール9種の代謝成分分析のPCAスコアプロット

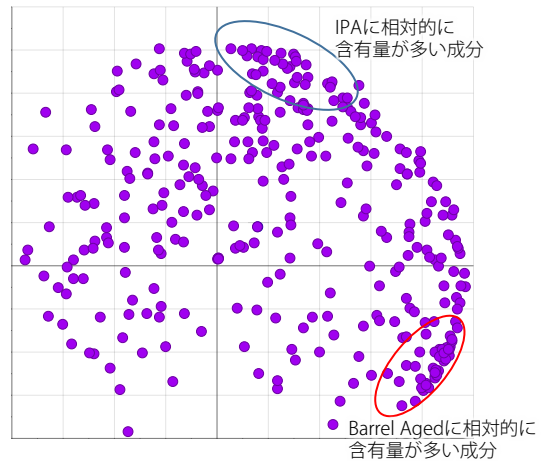


図5 市販ビール9種の代謝成分分析のPCAローディングプロット

表5 各市販ビールに相対的に多く含有する代謝成分の一部

ビールサンプル	相対的に多く含有する代謝成分
IPA	Xylitol, Inositol, Histidine, Glucaric acid, Asparagine, Aconitic acid
Barrel Aged	Lactic acid, Uracil, Arabitol, Mannitol, Tartaric acid, Leucine

■ 試験醸造ビール分析 ① 香気成分分析

野生酵母から醸造したビールの新製品開発において、新規酵母(New Yeast)の一次選抜のために、従来の酵母(Yeast1, Yeast2)との比較を行いました。

試験醸造したビールのサンプルを使用して、前項と同様にSmart Aroma Databaseで香気成分を網羅分析した結果、140成分を同定することができました。PCAにより、新規野生酵母と従来酵母の差異を確認することができました(図6)。



図6 試験醸造ビールの香気成分分析のPCAスコアプロット

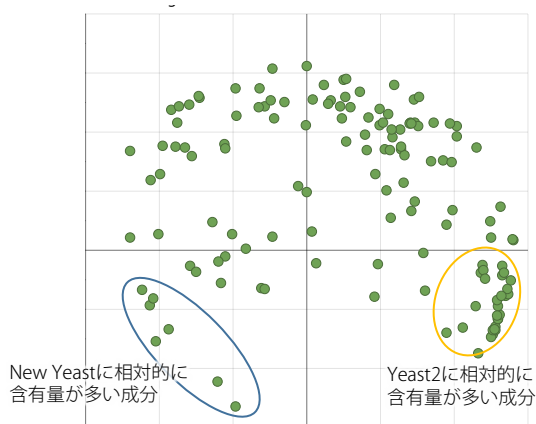


図7 試験醸造ビールの香気成分分析のPCAローディングプロット

表6 各酵母に相対的に多く含有する香気成分の一部

ビールサンプル	相対的に多く含有する香気成分
New Yeast	Linalyl butyrate, alpha-Humulene, Isobutyl acetate
Yeast2	Ethyl acetate, Methyl octanoate, Neral, Methyl geranate, d-Carvone, 4-Methoxystyrene

■ 試験醸造ビール分析 ② 代謝成分分析

①と同じ試験醸造ビールサンプルを誘導体化前処理し、Smart Metabolites Databaseのメソッドを使用して網羅分析したところ、361成分が同定されました。PCAにより、野生酵母由来の試験醸造ビールの代謝成分に関し、その差異を可視化することができました(図8)。

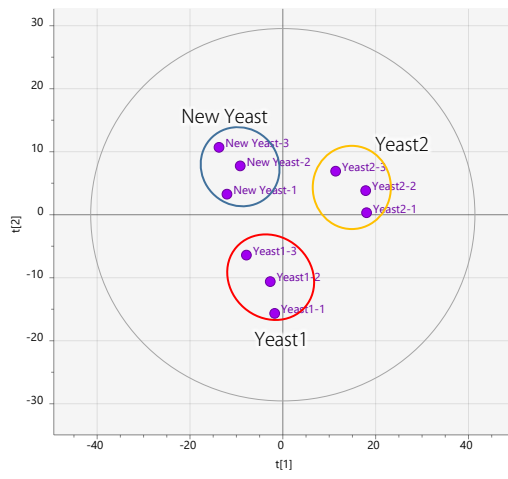


図8 試験醸造ビールの代謝成分分析のPCAスコアプロット

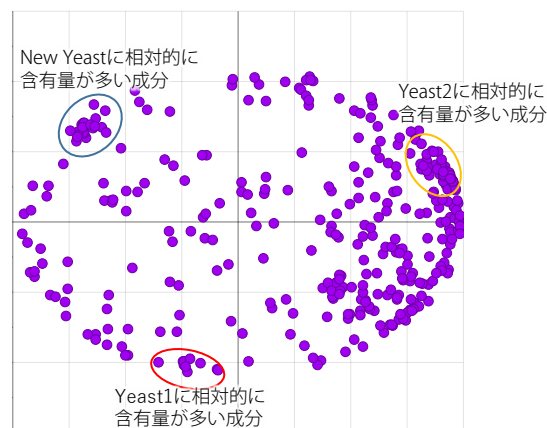


図9 試験醸造ビールの代謝成分分析のPCAローディングプロット

表7 各酵母に相対的に多く含有する代謝成分の一部

ビールサンプル	相対的に多く含有する代謝成分
New Yeast	Maltose, Putrescine, Glycine, 4-Hydroxyproline, Glutamine, Glycerol
Yeast1	Sucrose, Isomaltose, Glutaric acid
Yeast2	4-Aminobutyric acid, Pyruvic acid, Mannose, Xylitol, 3-Aminopropanoic acid, Lysine

■ MOCAによるマルチブロック統合解析

MOCAとは、マルチブロック直交成分分析の略で、同じサンプルに対して異なる方法で得られたデータ（マルチブロックデータ）をPCAと同じように俯瞰すると共に、ブロック間でどのような共通変動または固有変動が存在しているかを可視化できる統合的データ解析法です。ここでは、各Smart Databaseで網羅分析した2つのブロックデータを統合解析し、香気成分と代謝成分の相関を評価しました。

・市販ビール9種のマルチブロック解析

図2,4ではサンプルの分布が異なっていたため、香気と代謝の相関は評価できませんでした。MOCAにより、2ブロックで共通した変動パターンを抽出しました（図10）。丸が小さいサンプルほどブロック間で分布位置の変化が少なく、ここでは全サンプルとも良好な対応関係が得られています。そこで、香気成分と代謝成分を重ね書きしたローディング（図11）から、両成分間の相関性を調べることができます。例えばIPAでは、右上に分布する香気成分のLinaloolと代謝物のInositolが、関連して高濃度であることが示唆されます。

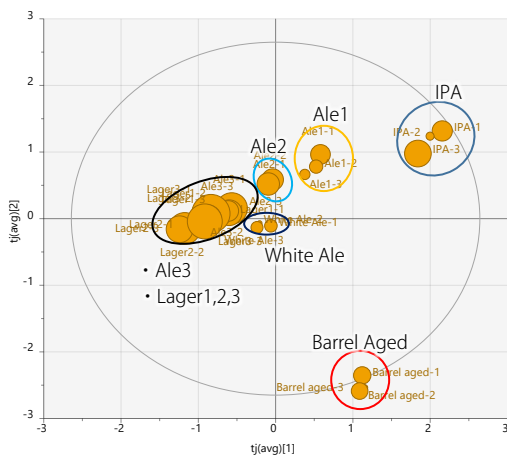


図10 市販ビール9種の香気成分・代謝成分分析のMOCAスコアプロット

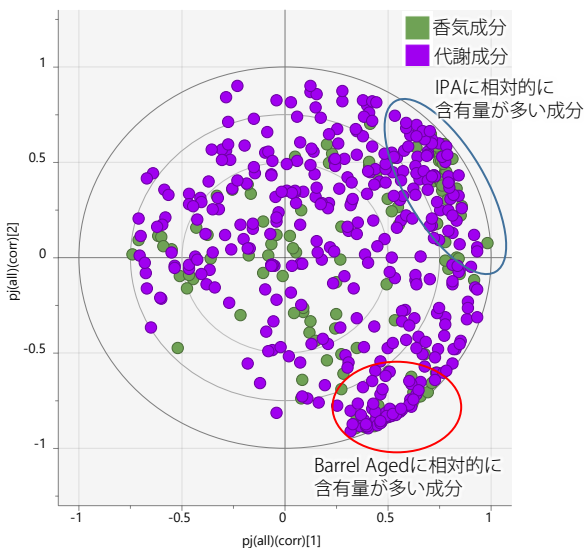


図11 市販ビール9種の香気成分・代謝成分分析のMOCAローディングプロット

・試験醸造ビールのマルチブロック解析

試験醸造ビールでも、各サンプルの丸が小さく、各ブロック間（香気成分と代謝物）で同じ位置にサンプルのスコアが得られており、高い相関性が見られます（図12）。ローディングプロットから、一例としてNew Yeastでは、香気成分のalpha-Humuleneと代謝物のGlycineが関連して高濃度であり、他のサンプルと異なる特徴であることがわかります（図13）。

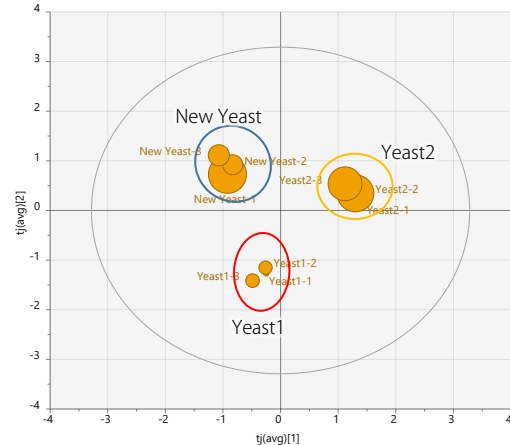


図12 試験醸造ビールの香気成分・代謝成分分析のMOCAスコアプロット

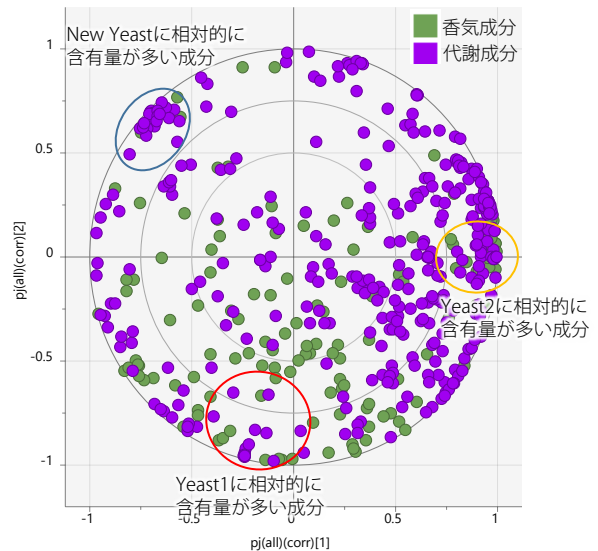


図13 試験醸造ビールの香気成分・代謝成分分析のMOCAローディングプロット

■ まとめ

市販ビールおよび試験醸造ビールについて、香気成分・代謝成分それぞれの網羅分析を行いました。Smart Aroma DatabaseおよびSmart Metabolites Databaseを使用することで、対象化合物の多いこれらの分析も簡単に実施することができました。

各網羅分析の結果を多変量解析することにより、市販ビールおよび試験醸造ビールについて、それぞれの違いを可視化することができました。さらに、2つの網羅分析データを、MOCAで統合解析することにより、香気成分と代謝成分の相関を見ることができました。製品化したビールの品質管理に有用であるだけでなく、新製品開発段階の酵母選抜の手掛かりとなる分析結果を得ることができました。

<謝辞>

本測定を行うにあたり、ご協力いただいた有限会社 二軒茶屋餅角屋本店(伊勢角屋麦酒) 鈴木成宗社長、山宮拓馬氏、Far Yeast Brewing 株式会社 山田司朗社長、細貝洋一郎取締役、インフォコム株式会社 吉川 恵健氏に感謝いたします。

GCMS-TQ、Smart Aroma Database、および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。

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

01-00323-JP 初版発行：2022年 2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