



7697A ヘッドスペースサンプラ GC/MS 及び 多変量解析によるブラック缶コーヒーの 香気成分の分析



＜要旨＞ 7697A ヘッドスペースサンプラは Agilent 独自のサンプリング方式により、高感度で再現性の高い分析が実現可能な装置です。また、スタティック（静的）ヘッドスペースサンプリングにより、人間が嗅ぐ“香り”に近い成分組成で分析することが可能です。さらに、バイアルに詰めるだけで簡単に分析が可能で、多検体処理にも向いています。今回、GC/MS と組み合わせコーヒーの香気成分に適用したところ、良好な結果が得られました。また、得られた結果について、多変量解析を実施したところ、サンプルの分類、それを特徴づけている化合物を見出すことが可能でした。

Key Words: スタティック（静的）ヘッドスペース、コーヒー、香気成分、多変量解析、GC/MS

* * * * *

1. はじめに

食品香気には、微量成分も寄与することが多く、その分析法には連続蒸留抽出（SDE）法や Tenax などの吸着剤を用いるダイナミックヘッドスペース法など濃縮を伴う分析法が使用されることが多くあります。また、固相マイクロ抽出（SPME）やスターバー抽出（SBSE）のような抽出に固定相を用いる手法も濃縮を伴います。そのため、上述の手法では抽出媒体の選択性や濃縮過程における変化により、必ずしもその“香り”を反映していないことがあります。本アプリケーションノートでは、缶コーヒー（ブラック）を試料とし、鼻で嗅いだ“香り”を分析することを目的としました。そこで、“香り”のバランスが崩れにくいスタティック（静的）ヘッドスペース法により分析を行いました。Agilent 7697A ヘッドスペースサンプラは独自のサンプリング方式により、高感度かつ再現性の高い分析を行うことが可能です。データ解析は、多変量解析ソフトウェア Mass Profiler Professional (MPP) を使い、ウィザード形式で簡単に統計的有意差のある化合物を抽出した後、主成分分析及びクラスター分析を行いました。各サンプルの違いを視覚化し、それに影響を与えている化合物を見出しました。

2. 測定条件

装置: Agilent 7697A ヘッドスペースサンプラ +
7890A GC/5975C TAD MSD
多変量解析: Agilent Mass Profiler Professional

(HSS)

試料 : 10ml/20ml バイアル
加熱温度 : 80℃
加熱時間 : 20分
ループ温度 : 90℃
トランスファーライン温度 : 150℃
ループサイズ : 3ml
バイアル攪拌 : レベル 7
充填モード: 指定圧力まで一定流量
充填流量: 50ml/min
充填圧力: 15psi
充填時間: 0.05min
ループ充填モード: ユーザー設定
ループランプ速度: 30 psi/min
ループ最終圧力: 8psi
ループ平衡化時間: 0.05min
サイクルタイム : 35min
(GC)
注入法 : スプリット 18:1
注入口温度: 200℃
カラム : VF-WAXms 60 m, 320 μ m, 0.5 μ m
オープン温度: 40℃ (3.5min) -8℃/min -220℃ (3min)
カラム流量 : 1.6ml/min (コンスタントフローモード)
(MS)
トランスファーライン温度: 220℃
イオン化モード: EI (電子エネルギー: 70eV)
溶媒待ち時間: なし
ゲイン係数: 2
イオン源温度 : 260℃
測定モード : スキャン (m/z 29-400、サンプリング
2³)

3. 結果

市販の缶コーヒー（ブラック）12 銘柄を n=5 で測



定を行いました。データファイルは全部で 60 あり、検出ピーク数も多く、これらの膨大なデータの解析には多変量解析ソフトウェアを用いました。Fig. 1 (最終ページに掲載) に本手法で分析した缶コーヒーの香気成分のトータルイオンカレントクロマトグラム (TICC) を示しました (主要ピークには化合物名をラベルしました)。Air 成分直後から溶出する低沸点化合物の量が多いため、カラムは負荷量の大きい内径 0.32mm、膜厚 0.5 μ m の Wax 系カラムを用いました。このカラムにより Acetaldehyde から 5-Methyl-2-phenyl-2-hexenal まで測定できました。微量成分の 4-Methyl thiazole の検出も可能でした。Fig. 2 に 6 回の繰り返し測定を行った TICC の重ね書きを示しました。非常に良好な再現性が得られました。

Fig. 3 にフィルタリング (分散分析など) 前後における主成分分析の 3D スコアプロットを示しました。フィルタリングにより、化合物数が 305 から統計的有意差のある 104 になり、各サンプル間の違いが明確になっています。Fig. 4 に、2D スコアプロット及びローディングプロットを示しました。上図は第 1 主成分及び第 2 主成分におけるスコアプロット、中図は第 1 主成分及び第 3 主成分におけるスコアプロット、下図は第 1 主成分及び第 3 主成分におけるローディングプロットを示しました。無香料品、香料添加品は第 1 主成分のプラスマイナスのスコアで分類され、BG はかなり離れた位置にあります (Ethyl Propanoate 等が BG に特徴的)。BB も他の香料添加品と第 2 主成分のスコアで分かれています (5-Methyl furfural 等が BB に特徴的)。さらに、縦軸を第 3 主成分とすると、BT が離れてきます。そのローディングプロットから、Plegone、MEK、Furfuryl thioacetate、Methyl propanoate などが BT を特徴づけていることが分かりました。Table 1 に、第 3 主成分のローディングファクタ (大きい順) を示しました。それらの成分が上位にきているのが分かります。

製品の原材料表示によれば、無香料品は B、S、U、W、BU、BUD で、香料添加品は G、BT、BB、BG、BR、BW でした。

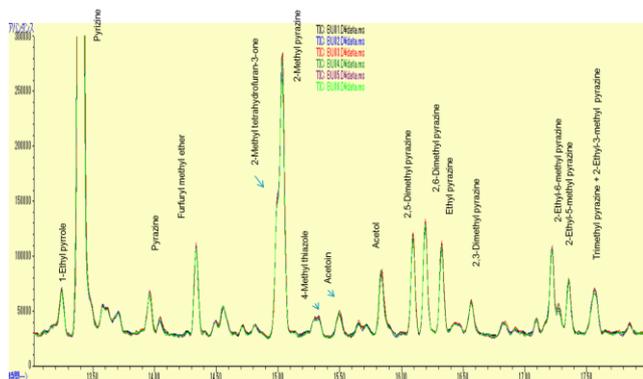


Fig. 2 6 回の繰り返し測定を行った TICC の重ね書き

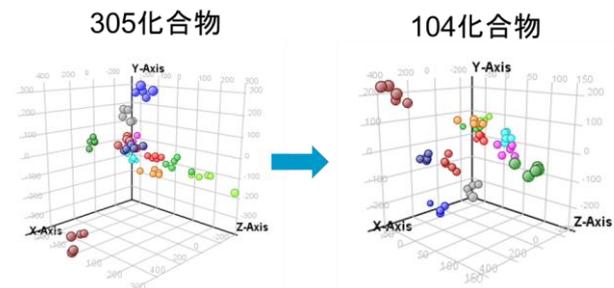


Fig. 3 フィルタリング (分散分析など) 前後における主成分分析の 3D スコアプロット

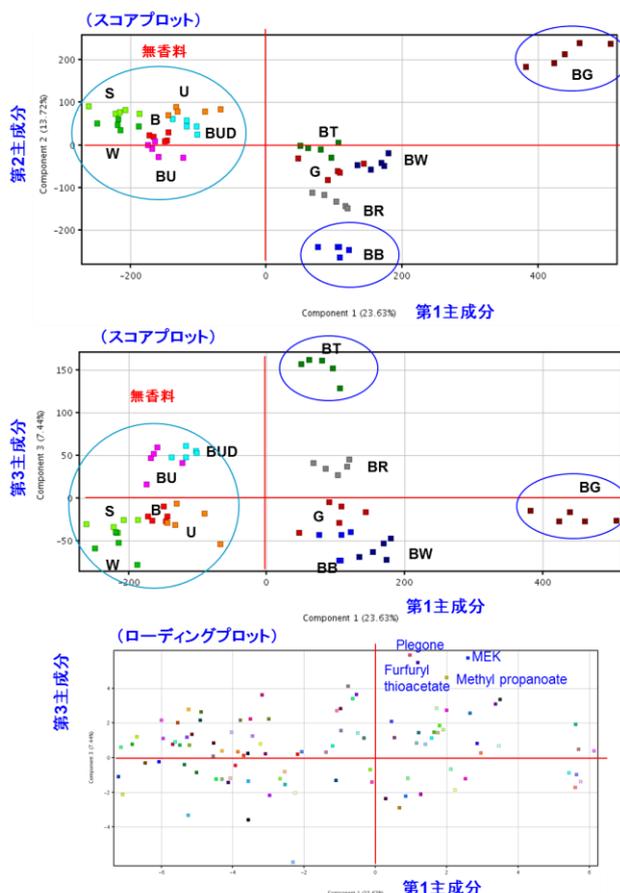


Fig. 4 2D スコアプロット及びローディングプロット

上図：第 1 主成分及び第 2 主成分におけるスコアプロット、中図：第 1 主成分及び第 3 主成分におけるスコアプロット、下図：第 1 主成分及び第 3 主成分におけるローディングプロット

Table 1 第 3 主成分のローディングファクタ

| Compound | Component 3 (7.44%) |
|---|---------------------|
| Pulegone \$\$ Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-, (R)- (CAS) | 5.938 |
| 2-Butanone (CAS) \$\$ Methyl ethyl ketone \$\$ MEK al \$\$ Butanone \$\$ Butan-2-one 7.020487 | 5.756 |
| Ethanethioic acid, S-(2-furanylmethyl) ester (CAS) \$\$ FURFURYL THIOACETATE | 5.505 |
| Propanoic acid, methyl ester (CAS) \$\$ Methyl propanoate \$\$ Methyl propionate | 4.629 |
| 68.0@23.022383 | 4.132 |
| cis-anti-cis-Tricyclo[7.3.0.0(2,6)]dodecane | 3.668 |
| 2-Butanone (CAS) \$\$ Methyl ethyl ketone \$\$ MEK al \$\$ Butanone \$\$ Butan-2-one | 3.625 |
| 2-Cyclopenten-1-one, 3-ethyl-2-hydroxy- | 3.418 |
| BUTYL HYDROXY TOLUENE \$\$ PHENOL, 2,6-BIS(1,1-DIMETHYLETHYL)-4-METHYL- | 3.373 |
| Acetaldehyde (CAS) \$\$ Ethanal \$\$ Acetaldehyde \$\$ Ethyl aldehyde \$\$ CH3CHO | 3.111 |

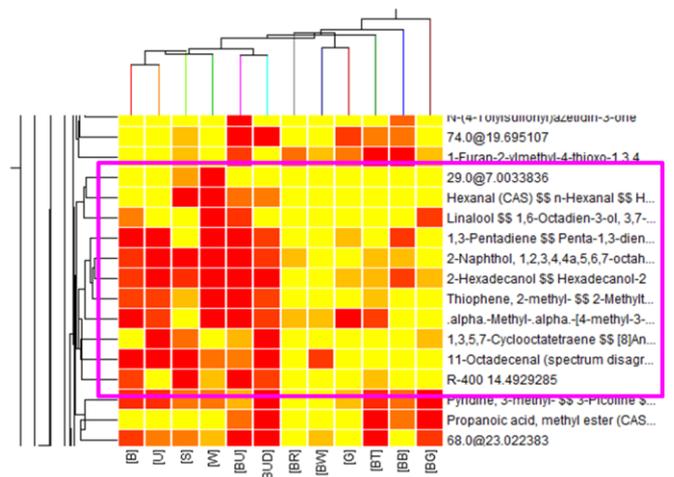


Fig. 6 階層型クラスターツリーのヒートマップの拡大図（無香料品に比較的多く存在する化合物）

Fig. 5 に階層型クラスター分析でデータをまとめた結果のヒートマップ及びデンドログラム（類似度をツリーにて表示）を示しました。主成分分析と同様に、無香料品が一つのクラスターを形成しているのが図の上部にあるデンドログラムで表示されています。BG は、他とは違いがあるのがわかります。また、ヒートマップは各サンプル・各化合物の存在量の大小を色別（赤色：多い、青色：少ない）で確認できるため、一目瞭然で、各サンプルに多く存在する化合物などを確認することができます。Fig. 6 に無香料品に比較的多く存在する化合物を示しました。このように MPP では階層型クラスターツリーの縦方向を拡大すると化合物名を表示することができます。

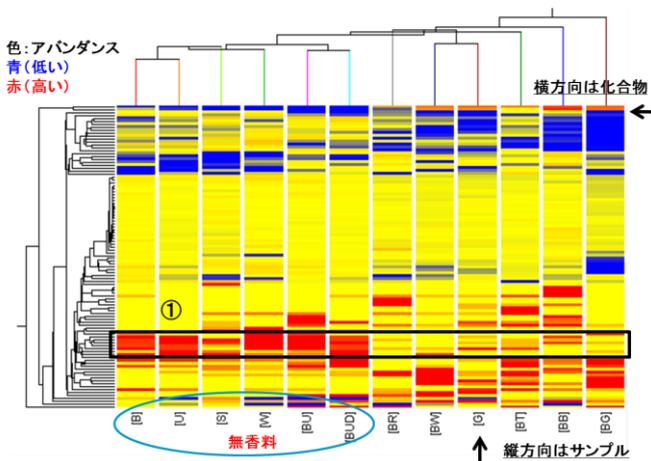


Fig. 5 階層型クラスターツリー

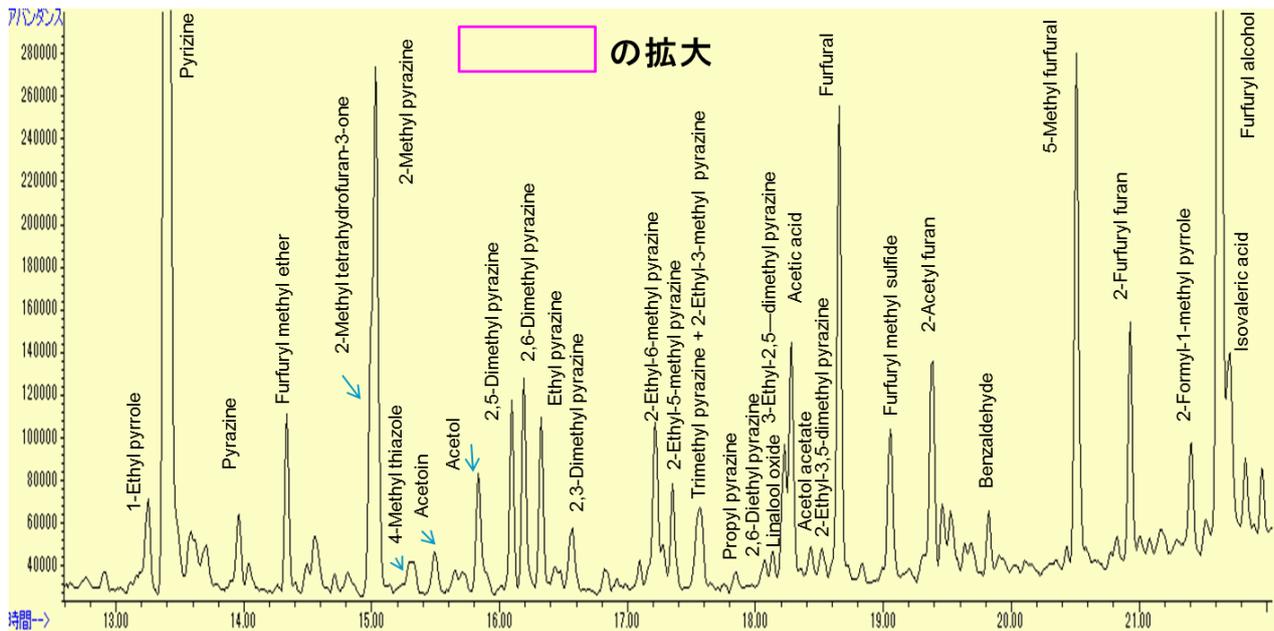
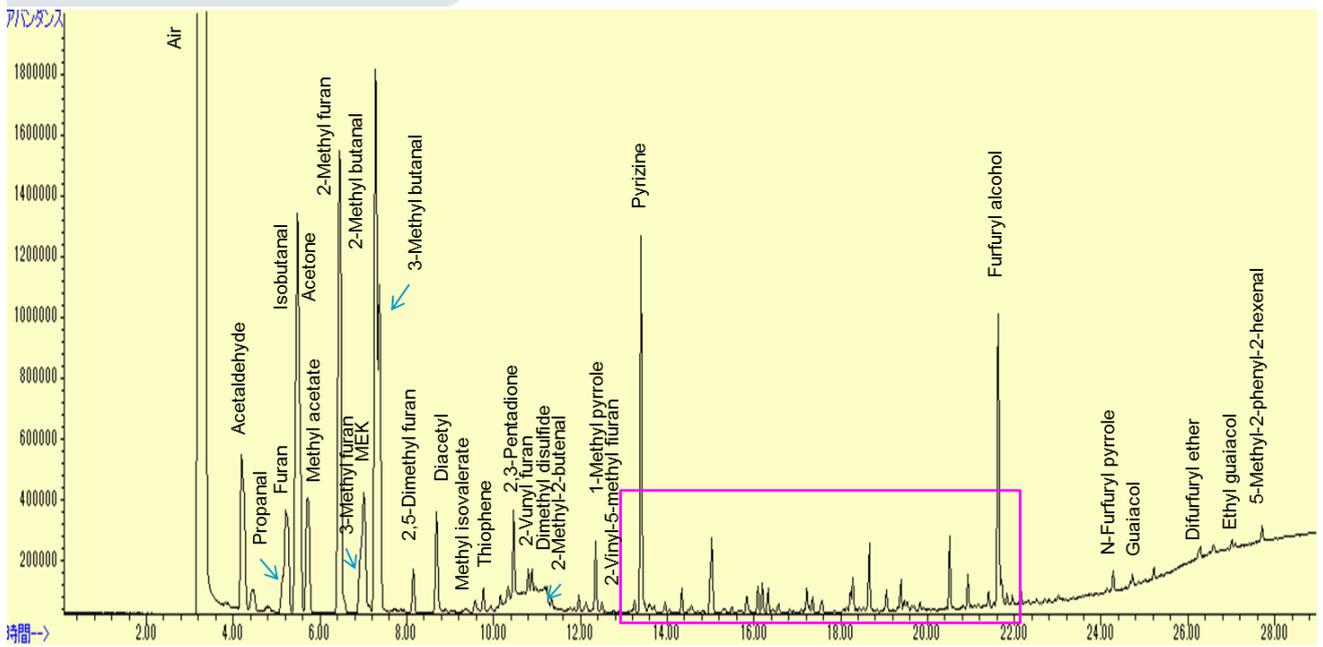


Fig. 1 缶コーヒーの香気成分の TICC 例

【GC-MS-201306NK-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp



Agilent Technologies