



SPME-GC/MS 及び多変量解析による PET ボトル入り緑茶中の香気成分分析



＜要旨＞ 固相マイクロ抽出（SPME）－GC/MS による緑茶の香気成分の分析を紹介します。緑茶は香り成分の量が微量で、高感度な分析法が要求されます。今回は簡便で高感度な SPME 法を前処理に用いました。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: SPME、緑茶、香気成分、多変量解析、GC/MS、Mass Profiler Professional、競合比較、サンプル比較、主成分分析

* * * * *

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よくあります。また、近年、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、分配・吸着させ、濃縮を行う分析法が普及してきました。一方、緑茶には爽やかな独特の良い香りがありますが、紅茶や烏龍茶に比較すると香り成分は微量です。本アプリケーションノートでは、簡便で高感度な SPME 法を用い、市販の PET ボトル入り緑茶飲料の香りを分析しました。データ解析は、多変量解析ソフトウェア Mass Profiler Professional（MPP）を用い、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（市販商品）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：Gerstel 社 MPS2 多機能オートサンブラー＋
Agilent 社 7890B GC/5977A Extractor MSD
多変量解析：Agilent Mass Profiler Professional

（SPME）

ファイバー：Sigma-Aldrich 社 DVB/Carboxen/PDMS
試料：10ml/20ml バイアル
加熱温度：60℃
抽出時間：30 分間（気相をサンプリング）

（GC）

注入法：パルスドスプリットレス、30psi、1.5min
注入口温度：260℃
カラム：VF-WAXms 60 m, 250 μ m, 0.5 μ m

オープン温度：40℃ (4min)–8℃/min–240℃ (5min)

カラム流量：1.0ml/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：240℃

イオン化モード：EI（電子エネルギー：70eV）

チューニング：Etune

溶媒待ち時間：なし

ゲイン係数：2

イオン源温度：280℃

測定モード：スキャン（ m/z 29–400、サンプリング
2°3）

3. 結果

市販の PET ボトル入り緑茶飲料 7 銘柄（OS、PB、OK、OZ、IS、AS、NS）を $n=5$ で測定を行いました。データファイルは全部で 35 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 に本手法で分析した緑茶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）。緑茶を特徴づける Dimethyl sulfide、Linalool、Geraniol、Indole、Ionone、1-Penten-3-ol、2,4-Heptadienal、ピラジン類、フラン類、ピロール類などが検出されました。

Fig.2 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（各サンプルのバラツキが最大になるように表示）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 930 から統計的有意差（一元配置分散分析、有意水準 5%）のある 255 になり、各サンプル間の違いが明確になっています。Fig.3 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及びローディングプロット、下図は第 1 主成分及び第 3 主成分におけるスコ



Agilent Technologies

アプロット及びローディングプロットを示しました。OZの第1主成分のスコア値が高く、そのローディングプロットよりピラジン類が寄与していることが分かりました。NSの第3主成分のスコア値が高く、そのローディングプロットより Jasmine、Citronellol、Isocaryophyllene などの寄与が大きいことが分かりました。また、Fig. 4に3Dスコアプロット(第1、第2、第3主成分)を表示すると、ASとISが非常に類似していることが分かります。

製品表示から、原材料はOS、PB、OK、OZ、IS、ASの6銘柄は緑茶、ビタミンCで、NSの1銘柄のみ緑茶、生茶抽出物、ビタミンC、香料でした。また、AS、ISには抹茶入りと表示がありました。

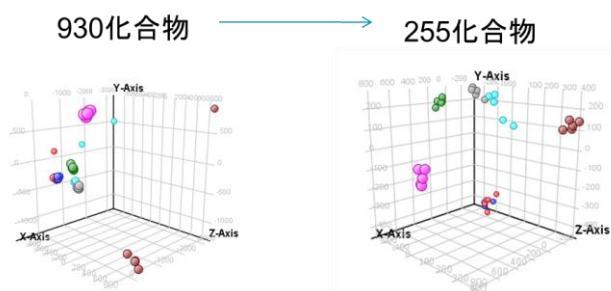


Fig. 2 フィルタリング(分散分析など)前後における主成分分析の3Dスコアプロット

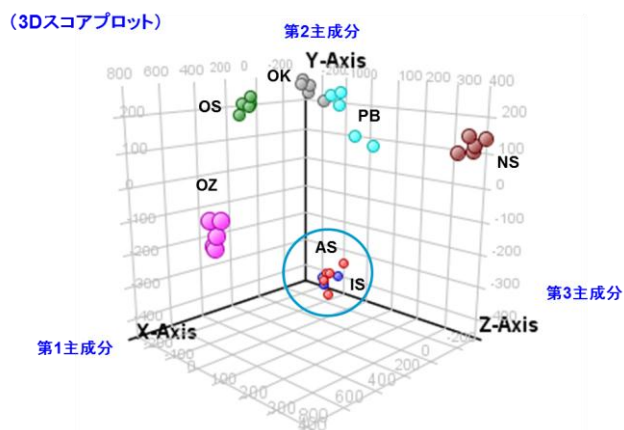


Fig. 4 3Dスコアプロット

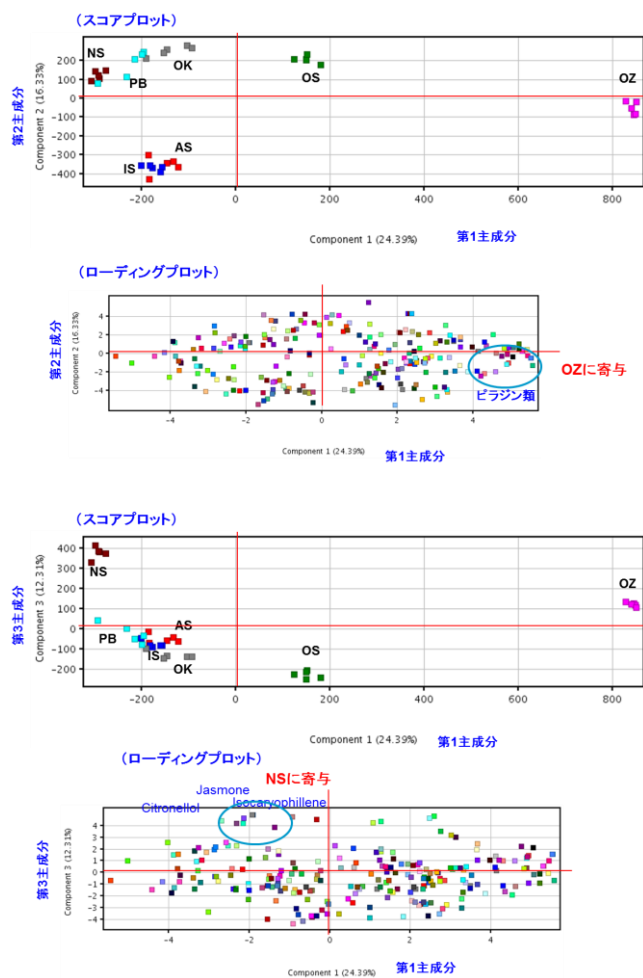


Fig. 3 2Dスコアプロット及びローディングプロット

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

Fig. 5に階層型クラスター分析(化合物を変動の類似度で配置)の結果を示しました。結果のヒートマップは各サンプル(図の縦方向)における各化合物(図の横方向)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。主成分分析で類似していたASとISですが、クラスター分析でも同様な結果でした。しかしながら、Fig. 5の①の四角で囲った部分で僅かな違いを確認できました。その中の2-(2-Propenyl)-furanについて、Fig. 6に、TICC及び m/z 79(その化合物に特徴的)のマスキロマトグラムを示しました。TICCでは差異がありませんでしたが、 m/z 79では差異を確認でき、その化合物はASの方に多く存在していました。また、OZに特徴的な②の四角で囲った化合物について、簡単にリスト化することができます。それらの化合物をTable 1に示しました。OZは、ピラジン類、ピロール類、フラン類といった焙焼香が特徴でした。



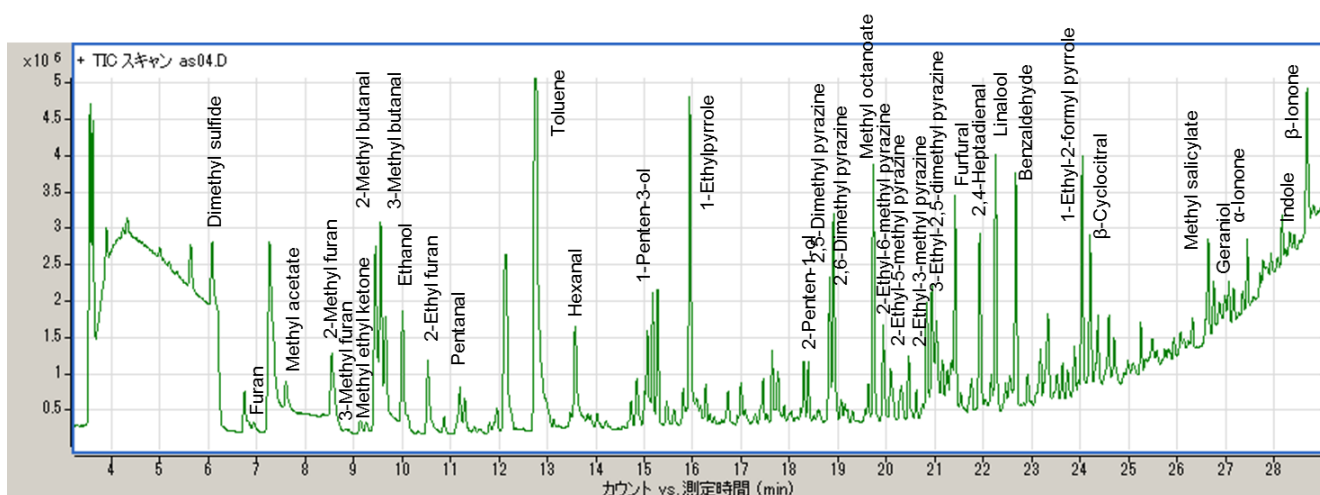


Fig.1 緑茶の香気成分の TICC

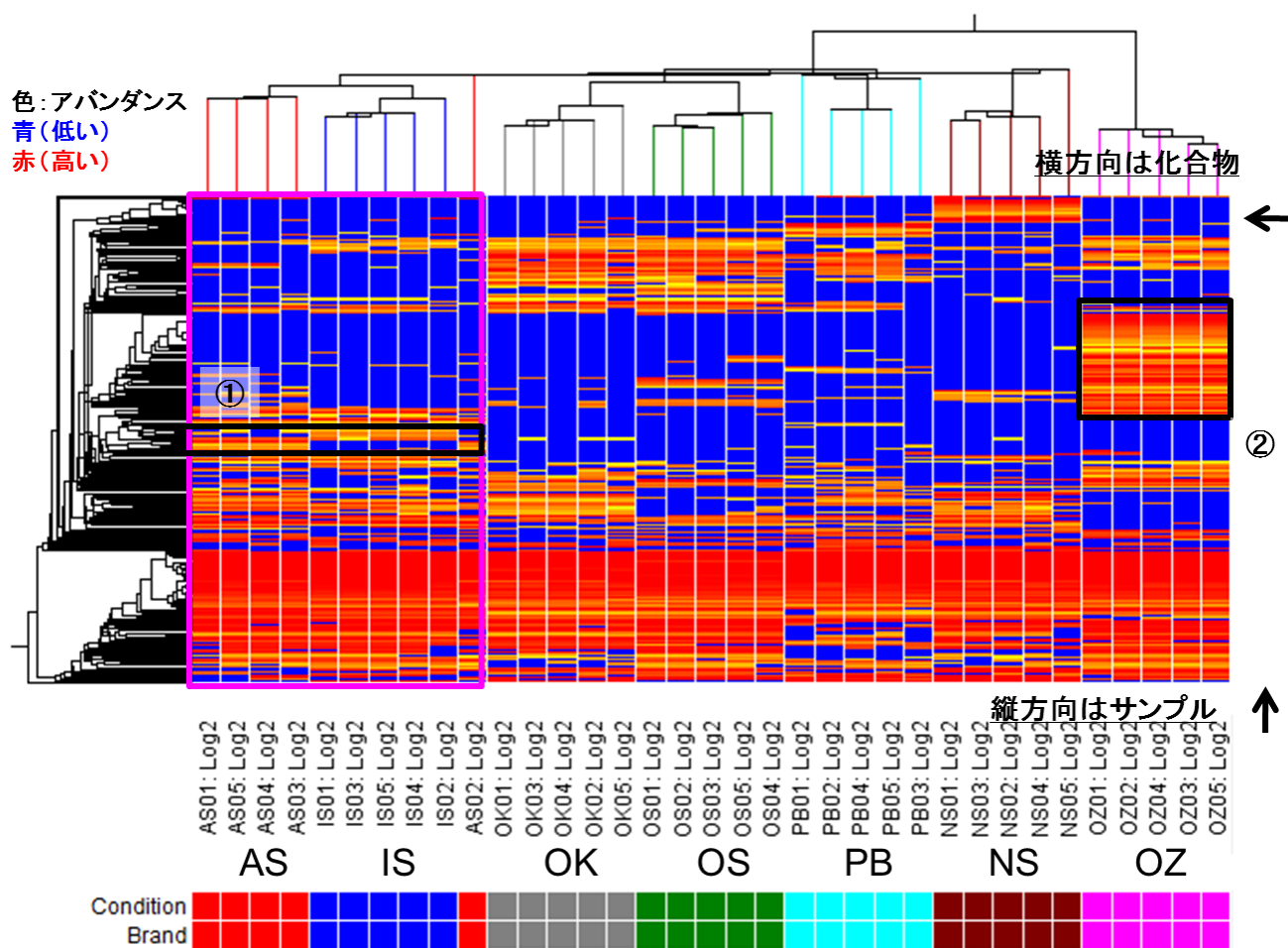


Fig.5 階層型クラスターツリー

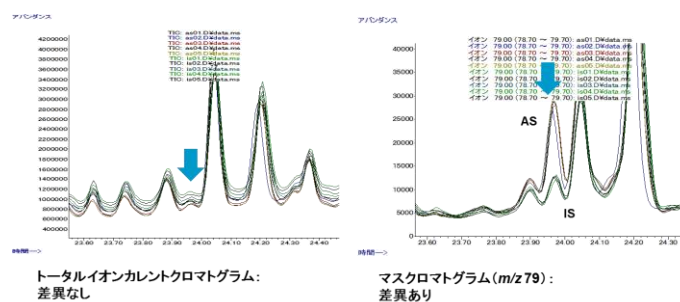


Fig.6 2-(2-Propenyl)-furan の TICC 及び m/z 79
のマスクロマトグラム

Compound	[AS]	[IS]	[NS]	[OK]	[OS]	[OZ]	[PB]	Mass	Retention Time
1H-Pyrole-2-carboxaldehyde, 1-methyl-\$S\$ 2-Formyl-1-methylpyrrole	0.00	0.00	0.00	0.00	3.96	23.21	0.00	109.00	17.45
Octane, 4-methyl- (CAS) \$S\$ 4-Methyloctane \$S\$ Isononane \$S\$ 4-methyl - octane	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	22.03	11.51	85.00	6.88
6-Hydroxynicotinic acid di-methyl derivative \$S\$ Methyl 6-methoxynicotinate#	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	21.86	0.00	167.00	26.92
2-methyl 5H-6,7-dihydrocyclopentapyrazine	0.00	9.69	0.00	0.00	0.00	21.72	0.00	134.00	25.95
Methyl 5-hydroxynicotinate	0.00	0.00	0.00	0.00	7.72	21.68	0.00	153.00	25.02
5-Amino-2-methoxyphenol N,N-methyl-, methyl ether	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	21.40	0.00	122.00	30.15
Pyrazine, 2,6-diethyl- \$S\$ 2,6-Diethylpyrazine	0.00	0.00	0.00	0.00	7.65	21.24	0.00	135.00	20.80
2,3-Diethyl-5,6-dimethylpyrazine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	21.11	0.00	164.00	22.45
.alpha.-Methyl-.alpha.-[4-methyl-3-pentenyl]oxiranemethanol 21.34578	11.41	0.00	0.00	0.00	0.00	20.98	0.00	59.00	21.35
Pyrazine, 2,3-dimethyl-5-[2-methyl(propyl)] \$S\$ 5-Isobutyl-2,3-dimethylpyrazine #	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	20.68	0.00	122.00	22.24
5H-5-Methyl-6,7-dihydrocyclopentapyrazine \$S\$ 5-Methyl-5H-cyclopenta[b]pyrazine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	20.42	0.00	119.00	24.22
5,5-Dimethyl-2-phenyl-4,5-dihydro-3(2H)-furanone	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.98	0.00	56.00	21.23
Pyrazine, 2-methyl-5-propyl- \$S\$ 2-Methyl-5-propylpyrazine	0.00	0.00	2.94	0.00	0.00	19.65	0.00	108.00	21.58
Octane, 4-methyl- \$S\$ 4-Methyloctane \$S\$ Isononane	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.35	12.85	43.00	7.97
Vinylfuran \$S\$ 2-Ethenylfuran \$S\$ 2-Vinylfuran \$S\$ Furan, 2-ethenyl-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.15	0.00	94.00	13.37
2-Acetyl-5-propyl-1,4-pyrazine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	19.03	0.00	136.00	23.00
Perilla alcohol \$S\$ 1-Cyclohexene-1-methanol, 4-(1-methylethenyl)- (CAS)	3.74	0.00	0.00	0.00	0.00	19.11	0.00	93.00	16.95
136.0@25.22784	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	18.07	0.00	136.00	25.23
.gamma.-Campholenaldehyde	0.00	0.00	0.00	0.00	11.15	18.16	0.00	79.00	24.21
2-Methyl-6-vinyl pyrazine	0.00	0.00	2.99	0.00	0.00	15.34	0.00	120.00	21.84
3,4-dimethyl-1H-pyrrole-2-carboxaldehyde	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	18.47	0.00	123.00	20.17
136.0@22.836143	11.41	0.00	0.00	0.00	0.00	17.39	0.00	136.00	22.84
3,5-dimethyl-6,7-dihydro-5H-cyclopentapyrazine	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	18.42	0.00	133.00	25.18
Pentane, 2-methyl- (CAS) \$S\$ 2-Methylpentane \$S\$ Isohexane \$S\$ (CH3)2CH(CH2)2CH3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	18.31	13.55	43.00	4.12
Benzene, 1,2,4-trimethyl- \$S\$ psi-Cumene \$S\$ As-Trimethylbenzene \$S\$ Pseudocumol	7.15	3.43	0.00	0.00	3.37	17.92	0.00	105.00	18.03
Benzaldehyde, 3-ethyl- \$S\$ 3-Ethylbenzaldehyde	0.00	3.57	0.00	0.00	0.00	16.80	0.00	134.00	25.58
2,3-Dihydro-4,7-dimethyl-1H-1,5-benzodiazepin-2-one	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	17.66	0.00	188.00	32.00
Benzaldehyde, 4-(acetoxy)-3-methoxy- \$S\$ Vanillin, acetate \$S\$ Acetovanillin	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	16.66	0.00	152.00	24.81
Pyrolidine, 1-(1-butenyl)- \$S\$ 1-(1-Butenyl)pyrrolidine	0.00	0.00	0.00	0.00	6.20	16.81	3.18	110.00	17.12
122.0@22.73322	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	16.42	0.00	122.00	22.73
78.0@26.573278	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	16.15	0.00	78.00	26.57
59.0@21.152765	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	14.51	2.81	59.00	21.15
148.0@26.75816	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	14.21	0.00	148.00	26.76

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。