

機器分析による食品風味の客観的評価技術確立 のためのフードメタボロミクスの応用

—機器分析による海苔の香りの視覚化の可能性—

食品コスメ部
吉村臣史

本研究では、海苔をモデル食品とし、海苔の風味を機器分析により評価する技術を確立するため、まずは香りの観点から機器分析の応用可能性を評価した。「磯の香り」「焙煎香」「泥臭さ」「香りのバランス」の観点から官能評価を行い、今回被験対象となった10種類の海苔をランク付けした。固相マイクロ抽出を応用した静的ヘッドスペースサンプリングによるガスクロマトグラフ質量分析により、421個のピークをアサインすることができた。これらのデータを主成分分析及び部分的最小二乗判別分析、階層的クラスター分析により統計解析を行うことで、今回実施した官能評価の結果と機器分析による結果との相関性を検証した。

1. はじめに

消費者が食品を選択する上で「おいしさ」等の風味は、重要なファクターとなる。製品開発や流通等において、風味に係る視覚的データのニーズはあるものの、大部分は専門家による官能試験の結果や非破壊分析によるデータが多く、消費者が食品全体の風味を容易に想像できるデータとは言い難い。これら手法には以下の課題もあげられる。

- ・ **【官能試験】** 専門的知識を持ち、経験の豊富なパネラーの確保が困難。一般人のパネラーであれば、結果に主観性が大きく反映し、結果のバラツキが発生。
- ・ **【非破壊分析】** 糖度分析など測定可能な項目が限定。

食品の風味評価に関しては、成分分析による評価又は味覚認識装置による評価があげられる。前者では、難揮発性成分分析（主に味に関与）と揮発性成分分析（主に香りに関与）の2つに大別され、特定された成分から「旨味が強い」、「柑橘臭が強い」といった評価が行われる。これは、個々の成分が持つ特性と含有量から推察した結果であり、食品全体の風味を示したものとは言えない。後者は、複数のセンサーにより食品全体の風味を総合的に評価できる技術である。当該機器は、センサー工学の観点から取り組まれ^{1),2)}、数機種市販されている。得られるデータは客観的なものであるものの、苦味、旨味などおおまかな味覚の方向性を示し、食品独自の風味を示していない。より正確な「おいしさ」の評価を行うためには、得られたデータ

と官能評価における表現との相関性を十分に吟味することが肝要である。これまでも、多くの研究者において、「食品風味の可視化」に取り組みされており、時代を問わずニーズは非常に高い³⁾⁻¹⁵⁾。

近年、生体中の代謝物を網羅的に解析するメタボロミクス解析を食品分析に応用し、食品成分等を測定対象とした「フードメタボロミクス解析」が行われるようになった。質量分析装置（MS）の高感度化・低価格化により、食品成分の網羅的な分析手法として期待が高い。MSのフロントエンドとして、ガスクロマトグラフ（GC）や液体クロマトグラフ（LC）、キャピラリー電気泳動など幅広く適用でき、様々な成分を測定可能というメリットもある。複数のデータを比較するために、主成分分析等の統計解析を応用することによって、多くの情報を得られる研究手法となっている。

これまで、食品中に含まれる特徴的な成分や汚染成分の解明に応用した取組が報告される^{16),17)}とともに、農産物の品種間における特定成分の差異や食品加工工程における成分の動態等について、フードメタボロミクス解析を応用した事例は見受けられる。一方で、本研究のように、食品の「おいしさ」に関する客観的解析という観点において、官能試験の結果と統計解析との相関性を踏まえて、「おいしさ」に寄与する特徴を評価、検討した事例は少ない。Pongsuwanらは、茶葉から有機溶媒にて抽出された成分の網羅的解析の結果と官能試験の結果との相関性について検討している¹⁸⁾⁻²⁰⁾。しかしながら、それ以外の素材について報告例は見当たらない。

本研究は、機器分析による食品風味の可視化に繋げることを目的とする。食品の「おいしさ」に関して客観的な評価技術を構築するためには、網羅的な食品成分に関するデータの解析（データ解釈のための統計解析技術の応用を含む）と官能試験結果との相関性評価が不可欠であり、これまでの論文等の報告から鑑みても、ほとんど取り組まれていない。機器分析による食品風味の可視化に繋げるためには、これらデータの蓄積及びデータに基づいた解析技術の構築が重要である。これにより、風味に主眼をおいた新製品や新品種の開発、品質管理など様々な分野に展開可能な基盤技術となる。

2. 実験方法

2.1 被験試料

被験試料は、株式会社ヤマコより恵与された成型済乾海苔（入荷後焼き工程を1回実施した海苔）を使用した。

2.2 官能評価

官能評価は、健康人18名を対象に行った。官能評価は、被験者の評価参加の承諾を得た上で実施した。

今回の官能評価は、被験者の所在地が県境を越えるため実施場所を1箇所限定せず、被験者の所在地において実施した。官能評価は、被験者において一般的に摂食する環境であると判断した場所にて個別に実施した。実施期間を、2022年7月から8月の間としている。被験試料は、2.1に記載した海苔とし、そのまま摂食することで官能評価を行った。

官能評価項目は、「磯の香り（磯のさわやかさ～酸化臭）」「焙煎香」「泥臭さ（珪藻臭）」「香りのバランス」の4項目とし、下記の判断基準により採点を行った。

- (1) 風味の基準となる海苔（基準海苔）を設定し、基準海苔との比較により採点する。基準海苔は、高品質な海苔を設定した。
- (2) 「香りのバランス」以外の3項目については、基準となる点数を2点設定し、11段階評価を行った。基準となる点数の設定は下記ア及びイの通りとした。
 - ア 基準海苔と同等を7点に設定し、基準海苔よりも高い評価のうち最大の点数を10点に設定した。
 - イ 被験者が通常（良くも悪くもない）と評価する点数を4点に設定し、通常よりも低い評価のうち最小の点数を0点に設定した。
- (3) 「香りのバランス」は、基準海苔を5点と設定し、基準海苔との相対評価により、最小0点、最高10点の11段階評価を行った。

2.2 揮発性成分 (volatile organic compound; VOC) 分析前処理

成型された状態である乾海苔を粉砕機を用いて粉末状とした。粉末化した海苔 0.5 g をガスクロマトグラフ質量分析装置 (GC-MS) に接続したオートサンプラー用バイアル (容量 20 mL) に入れ、分析に供するまで室温環境下の専用ユニットに静置した。

2.3 VOC 分析

ヘッドスペースサンプリング法をベースとし、閉区間（密閉したバイアル）の気相空間に揮発した成分を固相マイクロ抽出 (Solid phase microextraction; SPME) により抽出した。使用機器、サンプル処理条件等詳細条件を表1に示した。

分析は、SPME ファイバーに吸着した VOC を GC-MS に供することにより分析を行った。使用機器、分析条件等詳細条件を表2に示した。

2.4 GC-MS データに基づいたピークのアサイン

GC-MS による測定データに基づいたピークのアサインは、国立研究開発法人理化学研究所からフリーソフトウェアとして配布されている MS-DIAL (4.9.221218) を使用した。MS-DIAL 上では、アサインされたデータについて、複数の分析データ間のピークエリア等を比較できるとともに、csv ファイルにアウトプットできることから、アウトプットしたデータファイルを以後の統計解析に使用することが可能である。

本研究では、MS-DIAL を用いて、

- ・ GC-MS 分析により検出されたピークについてアサインを行う
- ・ アサインされたピークについて、全ての GC-MS データから関係するピークのピークエリアを

表1 海苔由来 VOC のサンプリング等条件

項目	Name or value
Apparatus	AOC-5000plus
Incubation temperature	60°C
Preincubation time before VOC sampling	10 min
Extraction time by SPME	30 min
Desorption time on GC injection port	15 min
Agitator speed during VOC sampling	500 rpm
SPME fiber assembly	DVB/CAR/PDMS
Size of SPME fiber	50/30 mm, 23 Ga

表2 海苔由来 VOC の分析等条件

Conditions	Name or value
Apparatus	GCMS-TQ8030
Carrier gas	He
Carrier gas control	Constant linear velocity
Linear velocity of Carrier gas	30.0 cm/sec
VOC introduction to GC column	Split introduction
Split ratio	5
Carrier gas pressure (initial value)	21.6 kPa
Carrier gas flow rate (total, initial value)	7.2 mL/min
Column oven temperature (initial)	30°C
Column oven temperature program	Start temperature; 30°C. Temperature program; 5°C/min to 230°C.
Ionization source temperature	200°C
Interface temperature	230°C
Measured <i>m/z</i> region	from 35 to 300
Column	VF-WAXms
Column size	30 m x 0.25 mm i.d., film thickness 0.25 mm

算出する

- 全 GC-MS データにおけるアサインされたピークのピークエリアを csv ファイルとしてアウトプットする

ことにより、個々の海苔から検出される揮発性成分の差異を追跡するためのデータとして活用した。

2.5 統計解析

前項により得られたデータから、統計解析は Web 解析ツールである MetaboAnalyst 5.0 を用いて、主成分分析及び部分的最小二乗判別分析、階層的クラスター分析を行った。

3. 結果及び考察

3.1 海苔の官能評価

図1に、海苔の香りに関する官能評価の結果を示し

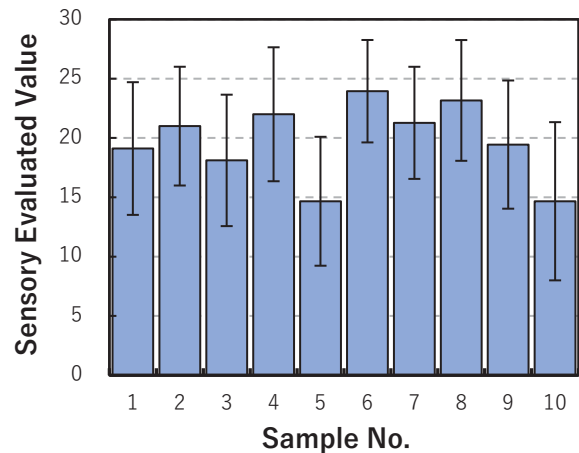


図1 海苔の香りに関する官能評価

ている。

この結果より、最も高い評価を受けたサンプル6において 23.94 ポイント、低い評価を受けたサンプル5及び10において 14.67 ポイントの点数が付けられた（全てが基準海苔と同等の香りであると判断した場合のポイントは26となる。）。

項目ごとに比較した場合、サンプル間の差異は図1と同様の傾向を示していた。すなわち、高い評価を受ける海苔は「磯の香り」や「香ばしさ」が強く感じられる一方、「泥臭さ」が比較的弱く感じられ、結果として高評価を受けていることが示された。「磯の香り」が強い一方、「香ばしさ」の評価が低い、といった特徴を示す海苔は確認されず、海苔の香り自体が一定のバランスを維持しながら、品質の高低に影響していることが想定された。

3.2 海苔から検出された VOC

図2にはサンプル2の海苔から検出された VOC のトータルイオンクロマトグラム (total ion chromatogram; TIC) を、図3にはサンプル5の海苔から検出された VOC の TIC を、図4にはサンプル6の海苔から検出された VOC の TIC を示している。

これらの結果より、サンプルごとにおいてクロマトグラムの差異は認められるものの、この結果から官能評価で示された違いを具体的に説明することは非常に困難である。そこで、検出されたピーク全てに対して統計学的手法等による解析を適用することにより、官能評価による結果との関連性を検証した。

3.3 主成分分析 (Principal component analysis method; PCA)

全ての GC-MS のデータから MS-DIAL を用いてアサインしたピークのエリアに基づき、PCA を行った結果を図5に示している。

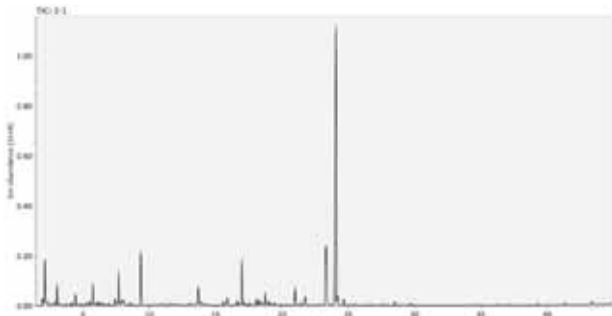


図2 サンプル No.2 から検出された VOC

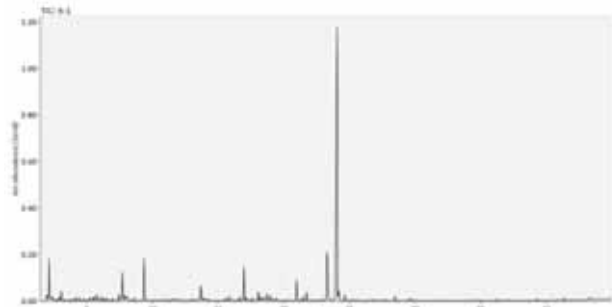


図3 サンプル No.5 から検出された VOC

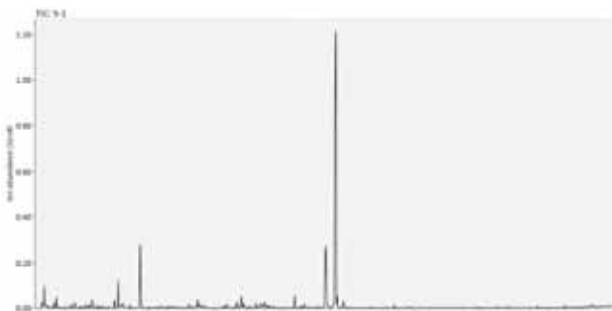


図4 サンプル No.6 から検出された VOC

この結果から、官能評価において高評価を受けたサンプル (図5内 A で示している部分) については、第2象限 (一部第3象限を含む) に向けて広い範囲に分布していることが示された。このグループにおいても、大きく2つに分類されることも考えられるが、この推論については次年度以降に得られたデータを踏まえて評価したい。

また、最も評価の低かったサンプル5及び10については、両方とも第4象限に位置し、他のサンプルと比較して組成が特異的である可能性が示唆されている。

3.4 部分的最小二乗判別分析 (Partial least squares-discriminant analysis method: PLS-DA)

図6は、PCA に供したデータを用いて PLS-DA を行

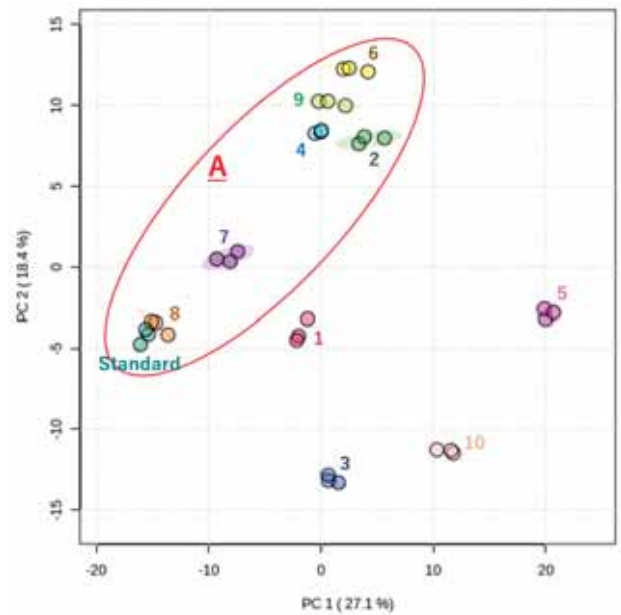


図5 海苔由来 VOC に対する PCA

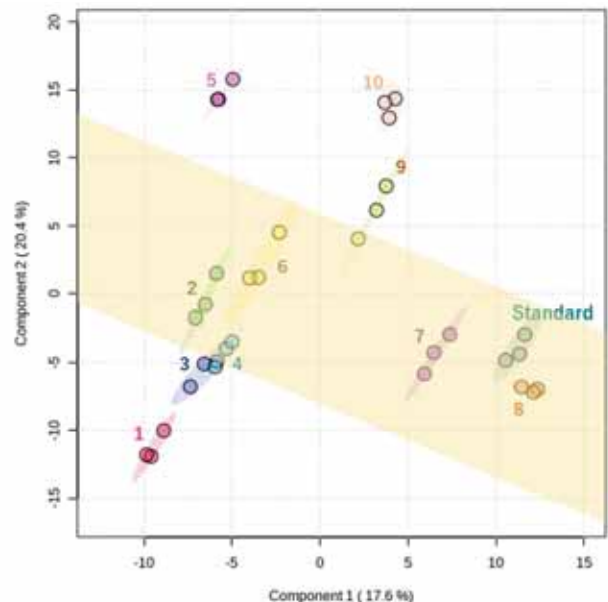


図6 海苔由来 VOC に対する PLS-DA

った結果である。この結果から、高評価を受けたサンプルは図中の色を付けた領域に集約している可能性が示された。これ以外のサンプルは、この領域から上下に離れて配置されていた。

PCA の結果では、サンプル9のデータが官能評価において高評価を受けたグループに配置されていたものの、PLS-DA の結果では当該領域から離れて配置されており、高評価群と分類される可能性が示されている。一方、PCA では高評価群と離れて位置していたサンプル3が PLS-DA では高評価群の近傍に配置されるなど、解析手法の違いの影響が見られている。この現

象についても、今後のデータの蓄積を踏まえて検証を行いたい。

3.5 階層的クラスタ分析 (Hierarchical cluster analysis method; HCA)

さらに、HCA を行った結果を図7に示している。HCA は、同一サンプルに対して3回測定を行っているが、測定された3回のピークエリアを平均した値を用いて解析した。解析は、ユークリッド距離を使用し、最遠隣法 (complete) により行っている。行方向については、検出されたピークを示しているが、今回のデータでは全体の概要を評価するために、個別ピークを紐づけるデータ (保持指標) は省略している。個々のバーの色 (図中「class」と記載) は、同一ピークについて、サンプルごとのピークエリアを標準化した値を示している。すなわち、赤色が濃いバーは、他のサンプルよりもピークエリアが大きいことを示している。

この結果から、今回測定されたデータにおいて、

- (1) 低評価を受けた海苔 (C2) では、R1 に分類されたピーク群の検出量が少なく、R2 及び R3 に分類されたピーク群の検出量が多い。
- (2) 高評価を受けた海苔 (C1 及び C4) では、PCA や PLS-DA でも示されたように、大きく2つのパターンに分類される。
- (3) C1 及び C4 を量的に評価すると、C1 は R5 に分類されたピーク群が多く検出され、C4 のグループでは R1 及び R4 に分類されているピーク群が多く検出されている。

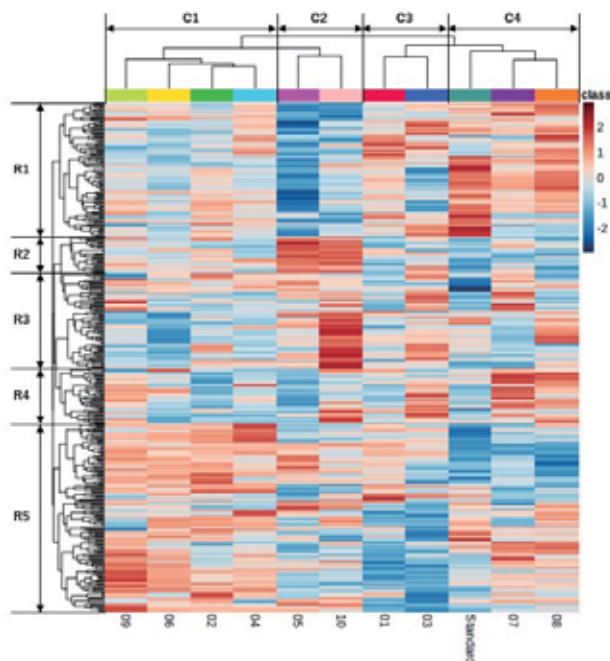


図7 海苔由来 VOC に対する HCA

- (4) C1 及び C4 において、量的な一様の傾向が認められず (C1 では R2 のピーク群が多く検出され、C4 では R3 のピーク群が多く検出される)、今後のデータの蓄積が必要である。
- (5) その他の海苔 (C3) では、R5 の一部のピーク群が小さく、C2 よりも検出量が少ない傾向である。

ことが示されている。

以上の結果から、高評価を受けた海苔では、R1 及び R5 に分類されたピーク群の検出量が多く、低評価を受けた海苔では、R2 及び R3 に分類されたピーク群の検出量が多い可能性が示された。

4. おわりに

これまで行った PCA 及び PLS-DA, HCA の結果から、GC-MS による分析結果を官能評価の結果に繋ぐ傾向が示されている。一方で、前述したように、今回の測定データが単年度により得られたデータであることから、年度の異なるサンプルにおいて同様の検証を行い、今回のデータと同様の傾向が見られるかどうか等の再現性や解析の妥当性、有用性等を評価する必要がある。今後についても、機器分析による「食品風味の可視化」に繋がる検討を継続して取り組んでいきたい。

本研究において使用した GC-MS/MS 構造解析システムは、電源立地地域対策交付金により導入したものである。また、本研究の実施にあたって海苔を御恵いただいた株式会社ヤマコ様に厚く感謝申し上げます。また、研究の実施について、本研究は JSPS 科研費 JP22K02109 の助成を受けたものです。

参考文献

- 1) Hayashi et al., Sens. Actuators, B, 2, 205, 1990.
- 2) Legin et al., Sens. Actuators, B, 65, 232, 2000.
- 3) 小泉幸道ら: 日本食品工業学会誌, 33, 316, 1986.
- 4) 玉野まり子ら: 日本食品工業学会誌, 39, 357, 1992.
- 5) 下田満哉, 筏島豊: 日本調理科学会誌, 34, 236, 2001.
- 6) 今村美穂, 牛尼翔太, 宮田慎吾: 日本調理科学会誌, 52, 67, 2019.
- 7) 武田珠美ら: 日本調理科学会誌, 52, 93, 2019.
- 8) 中島章裕: 乳業技術, 68, 29, 2018.
- 9) 菅野洋一郎ら: 電気学会論文誌 E, 140, 294, 2020.
- 10) 森田亜紀, 早川文代, 香西みどり: 日本食品科学工学会誌, 67, 13, 2020.
- 11) 森田亜紀, 早川文代: 日本調理科学会誌, 55, 105,

2022.

- 12) 飯島陽子: 化学と生物, 55, 593, 2017.
- 13) 飯島陽子: 化学と生物, 58, 210, 2020.
- 14) Iijima.Y et al.: Biosci. Biotechnol. Biochem., 80, 2401, 2016.
- 15) 河原崎正貴: 化学と生物, 55, 538, 2017.
- 16) Robledo and Smyth, Electrophoresis, 30, 1647, 2009.
- 17) Sawalha et al., Food Chem., 116, 567, 2009.

18) Pongsuwan et al., J. Agric. Food Chem., 56, 10705, 2008.

19) Pongsuwan et al., J. Agric. Food Chem., 56, 744, 2008.

20) Pongsuwan et al, J. Agric. Food Chem., 55, 231, 2007.

※本研究は令和4年度に実施しましたが、知的財産保護の観点から令和6年度の報告書に掲載しました。