

使用多元统计分析评估食品质量 (1) - 分析番茄汁中的代谢成分 -

川北祥人、坂本雄纪

方案优势

- ◆ Smart Metabolites Database™ 可以以高灵敏度同时分析亲水性代谢产物。
- ◆ 多元统计分析可以客观分析样品间差异。
- ◆ Traverse MS™ 软件可以轻松地进行 MRM 数据的多元统计分析。

前言

在食品及饮料市场当中，许多食品企业开发出了除味觉以外，还具有更多形式附加值的食品。这些产品满足了人们以健康为导向的饮食理念。这些高价位的食品，可以让消费者品尝出食材本身的高级感、奢侈感，满足他们对养生需求。与普通商品相比，这些商品通过不同的材料、制造及流通方法等实现差异化，成为消费者购买商品时的一种选择。

食品中的成分，例如糖、核酸、氨基酸、有机酸和脂肪酸等，会因为产品品种和制造方法的不同而产生差异，影响包括味道、功能性成分和货架期在内的食品质量。

本文中旨在分析 3 种市售的番茄汁，探索他们中的差异性成分。采用 Smart Metabolites Database 代谢产物数据库，实现亲水性成分的同时分析，利用 Traverse MS 多元统计分析软件，发现不同样品之间的差异性成分。结论介绍如下文

样品制备及分析条件

我们准备了三种市售番茄汁作为样品。这些样品只使用番茄和食盐作为配料。

预处理工作流程如图 1 所示。取 100 μL 番茄汁至 1.5 mL 离心管中，加入 10 μL 核糖醇水溶液 (0.2 mg/mL) 作为内标。离心管中加入 500 μL 混合比例为水：甲醇：三氯甲烷= 1：2.5：1 的提取溶剂，在 37°C 条件下振荡 30 min。离心 (4°C、3000 g、10 min)，取 450 μL 上层相 (水 / 甲醇相)。添加 400 μL 超纯水，充分混合后再次离心 5 min，取上清液 500 μL。之后用离心蒸发器使甲醇气化，通过冷冻干燥使之充分干固。在干固后的残渣中添加甲氧基胺盐 - 吡啶溶液 (20 mg/mL) 200 μL，在 30°C 条件下振荡 90 min。然后，添加 100 μL N- 甲基 -N-(三甲基硅烷基) 三氟乙酰胺 (MSTFA)，在 37°C 条件下振荡 30 min，上机分析。Smart Metabolites Database 代谢产物数据库含有 475 种代谢物的 MRM 参数，可用于 GC-MS/MS 分析。测试条件如表 1 所示。

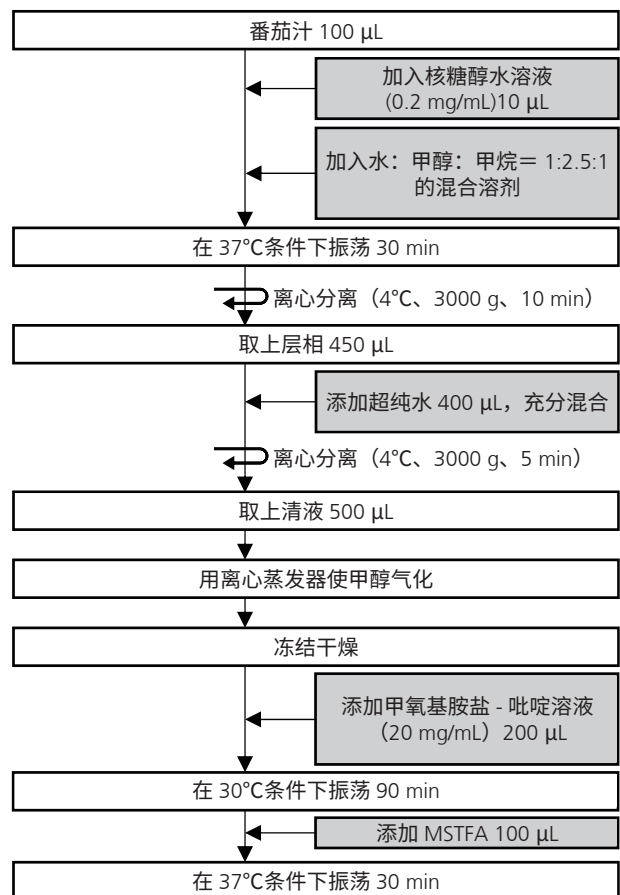


图 1 样品的预处理流程

表 1 测定条件

GC-MS :	GCMS-TQ™8040 NX
自动进样器 :	AOC™-20i + s
色谱柱 :	BPX-5 (Length 30 m, 0.25 mm I.D., df=0.25 μm)
[GC]	
气化室温度 :	250°C
柱温箱温度 :	60 C (2 min) → (15 C/min) → 330 C (3 min)
进样方式 :	分流
分流比 :	30
载气 :	He
载气控制 :	39.0 cm/s (恒线速度)
进样量 :	1 μL
[MS]	
离子源温度 :	200°C
接口温度 :	280°C
数据采集模式 :	MRM
循环时间 :	0.25 秒

结果

图 2 所示为具有代表性的样品 1 色谱图。从番茄汁的各检体当中检出葡萄糖和果糖等糖类、GABA 等氨基酸、有机酸、核酸和饱和脂肪酸等 113 种成分 (表 2)。

使用多元统计分析软件 Traverse MS (Reifycs 公司) 对这些检出的成分进行了多元统计分析。每个样品采集 3 次数据进行分析, 每个样品中检测到的化合物浓度以核糖醇内标进行校正。三种番茄汁分别被标记为样品 1~3。只在样品 1 种添加了食盐, 样品 3 则是采用高档品种的番茄制造。

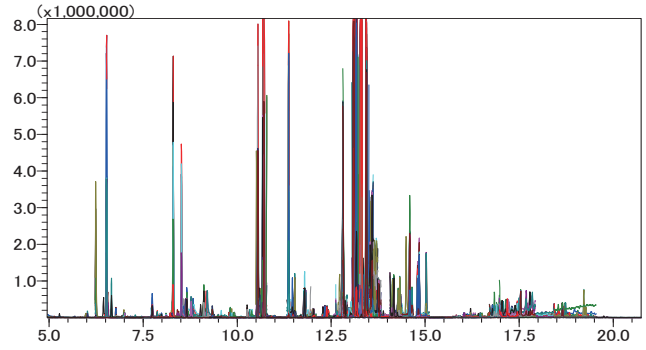


图 2 番茄汁 (样品 1) 的分析结果

表 2 从番茄汁中检出的成分

糖磷酸	氨基酸	其他 (有机酸、胺等)
3-磷酸甘油酸	2-氨基丁酸	2-氨基乙醇
磷酸二羟基丙酮	2-氨基庚二酸	2-羟基戊二酸
果糖 6-磷酸	3-氨基戊二酸	2-酮丁酸
6-磷酸葡萄糖	3-氨基异丁酸	2-酮戊二酸
3-磷酸甘油	3-氨基丙酸	3-羟基丁酸
甘露糖 6-磷酸	4-氨基丁酸 (GABA)	3-羟基异戊酸
5-磷酸核糖	5-氧脯氨酸	3-羟基丙酸
七庚糖七磷酸	5-氨基戊酸	乌头酸
	丙氨酸	尿囊素
	邻氨基苯甲酸	苯甲酸
	精氨酸	己酸
	天冬酰胺	柠檬酸
	天冬氨酸	柠檬酸
	谷氨酸	富马酸
	甘氨酸	乙醇酸
	组氨酸	下丘脑
	同型	异柠檬酸
	异亮氨酸	乳酸
	亮氨酸	月桂酸
	赖氨酸	马来酸
	蛋氨酸	苹果酸
	邻乙酰丝氨酸	丙二酸
	鸟氨酸	中康酸
	苯丙氨酸	甲基琥珀酸
	脯氨酸	烟酰胺
	糖 char 碱	烟酸
	丝氨酸	邻磷酸乙醇胺
	苏氨酸	草酸
	酪氨酸	棕榈酸
	色氨酸	磷酸
	缬氨酸	原儿茶酸腐胺
	核酸	邻苯三酚
	腺嘌呤	丙酮酸
	腺苷	核糖内酯
	一磷酸腺苷	硬脂酸
	鸟嘌呤	琥珀酸
	鸟苷	酒石酸
	次黄嘌呤	蔗糖酸
	肌苷	色胺
	尿嘧啶	尿素
	尿苷	尿酸
	黄嘌呤	

对 3 种番茄汁样品数据进行主成分分析 (Principal Component Analysis: PCA)，以及系统聚类分析 (Hierarchical Clustering Analysis: HCA) 的结果分别如图 3 及图 4 所示。根据使用 PCA 得分图和 HCA 树形图，表明样品可被明确区分各。

此外，根据 HCA 分析的热图，各种成分的含量在样品 3 中比其他两个样品高，而样品 1 中各种成分含量则相对较少。根据热图显示，在样品 1 和样品 2 中，差异性成分的相对含量较高。

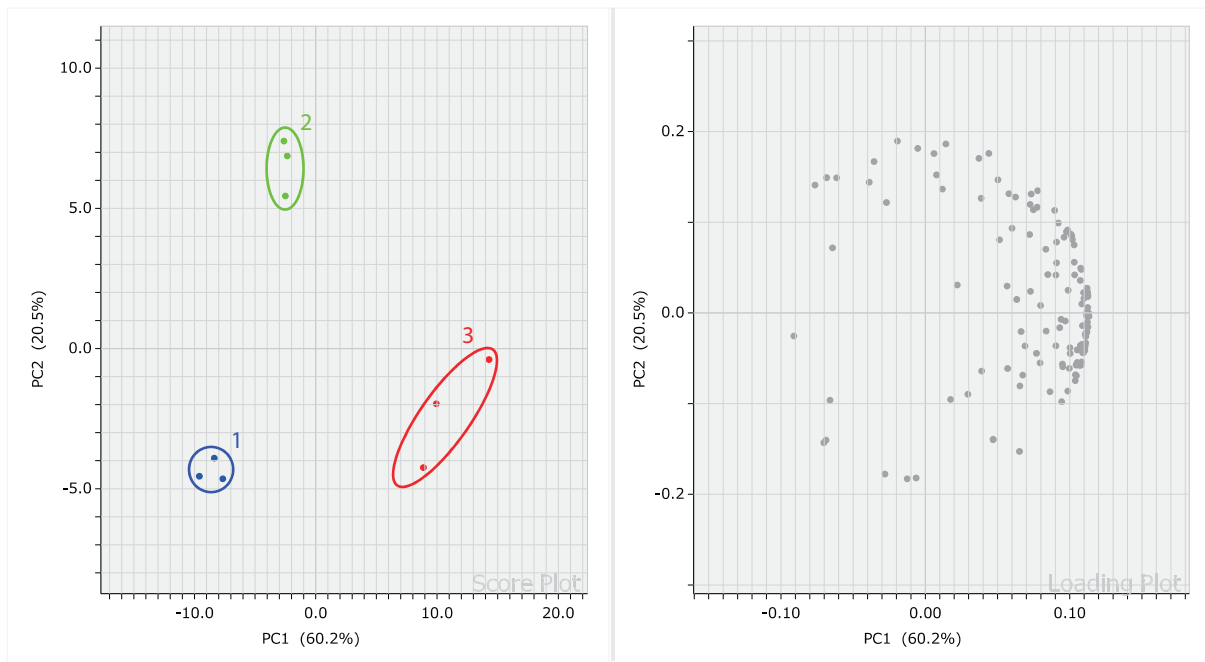


图 3 主成分分析 (PCA)
左：得分图、右：载荷图

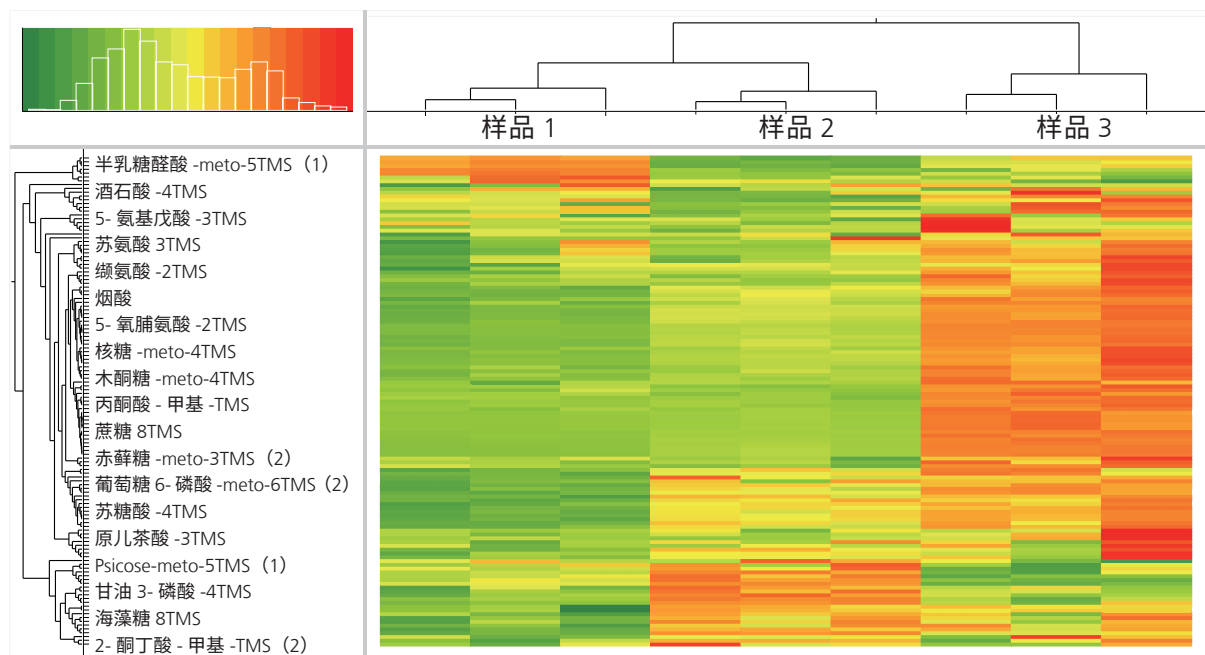


图 4 使用系统聚类分析 (HCA) 的树形图和热度图
按照各成分的相对检出量进行渐变标记。颜色越红表示含量越高，颜色越绿表示含量越低。

为详细分析样品中的差异性成分,进行了方差分析(ANOVA, analysis of variance)。图5显示了每个样品中 p-value < 0.01 的差异性成分。在样品1中,半乳糖醛酸(植物细胞壁成分)相对其他两种样品呈现出含量较多的趋势。在样品2中,磷酸腺苷,甘氨酸、天冬酰胺等味觉成分则相对较多。

在样品3中,检出更高含量的各种成分,且明显含有大量的蔗糖(甜味成分)和柠檬酸(酸味成分)。所有3种番茄汁中均检出番茄的功能性成分4-氨基丁酸(GABA)、葡萄糖胺、鸟氨酸和维生素B3(烟酰胺和烟酸),同样地,这些成分也是在样品3中含量最高。

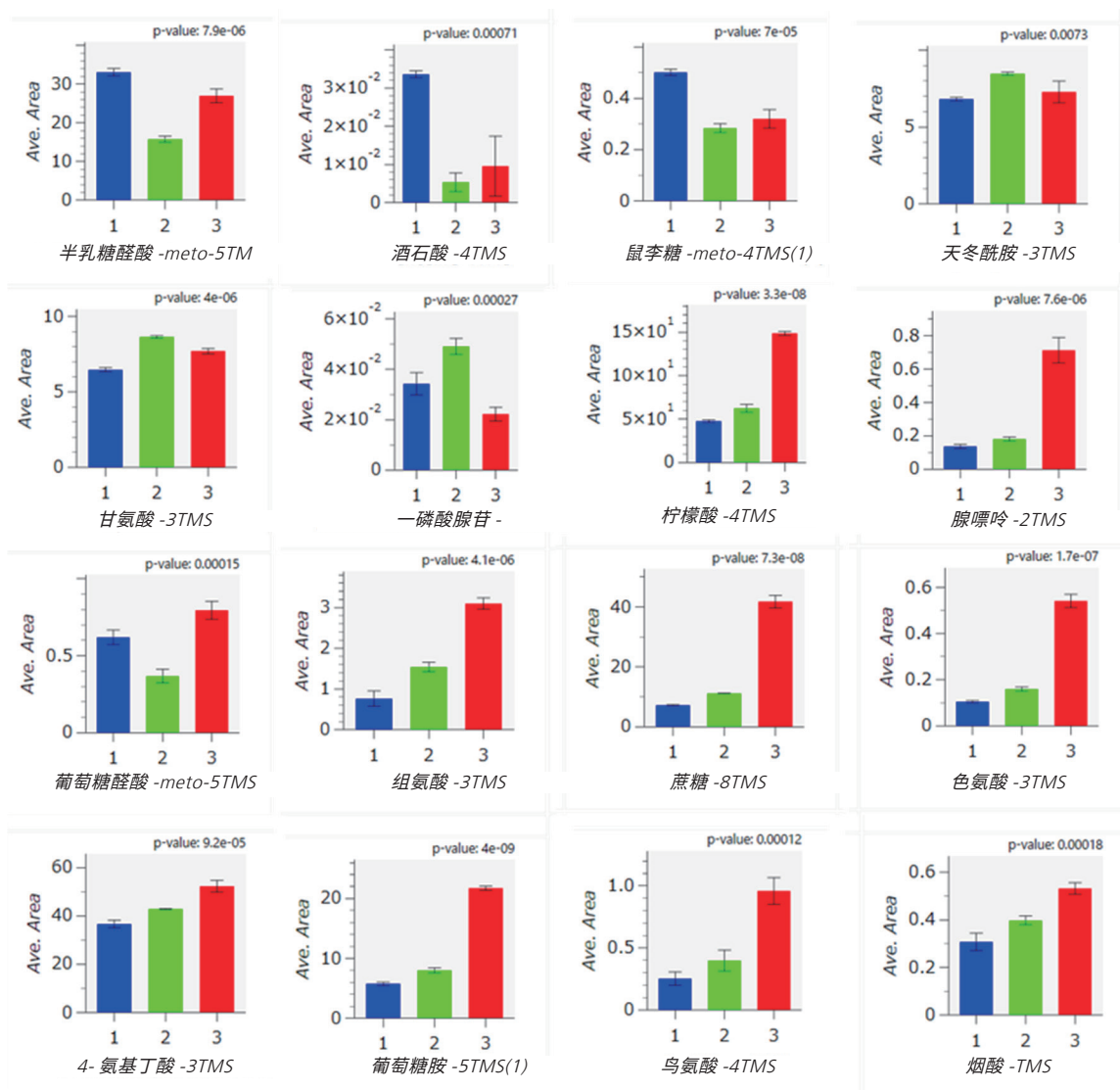


图5 方差分析结果 (ANOVA)
(只显示了 p<0.01 的部分成分。柱状图表示类内平均值,误差线表示标准偏差)

结论

采用 Smart metabolites Database 代谢产物数据库,可以对亲水性成分实现所有成分的同时分析和多元统计分析,发现不同番茄汁产品之间的差异性成分。结合味觉和风味等感官性评价,是一种非常具有前景且有效的产品开发手段,从而满足企业对市场开发的需求。

岛津应用云



GCMS、GCMS-TQ、Smart Metabolites Database 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。
Traverse MS 是 Life Fix 株式会社的商标



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考,不予任何保证。
如有变动,恕不另行通知。

第一版发行日: 2020年11月