

使用多元统计分析评估食品质量 (2) - 分析蕃茄汁中的香气成分 -

川北祥人、坂本雄纪

方案优势

- ◆ 顶空进样器 HS-20 的捕集阱模式可对含有水分的样品进行浓缩，然后进行高灵敏度分析。
- ◆ 多元统计分析可以客观评估样品间差异。
- ◆ 使用 AnalyzerPro 一个软件即可以完成多元统计分析的整个过程。

前言

众所周知，“色”、“香”、“味”是食品的评价的三要素。最近，食品和饮料市场正在积极推进以提高质量、增加功能性为目的的产品开发，旨在实现与其他产品的差异化。

食品材料的品种改良和选择也是差异化方法之一。例如，作物的基因差异会对香气成分造成影响。另一方面，蔬菜和水果饮料被作为不含添加剂的健康食品在市场上销售，这就使得生产企业对原料和商品本身差异性的评估变得更加重要。

在应用报道 M310 中分析了三种蕃茄汁中的代谢产物差异，并介绍了赋予味道的成分以及产品之间的功能性成分差异。本文中使用了与 M310 相同的三种市售蕃茄汁，通过顶空法 (HS) 分析了香气成分。另外，介绍了通过 AnalyzerPro 进行解卷积和多元统计分析 (差异分析) 的结果。

样品制备及分析条件

本文以三种市售蕃茄汁作为样品。之所以采用这种产品，是因为这些产品仅使用了蕃茄和食盐作为原料，方便分析。

采用岛津的顶空装置 (HS) 进行香气成分的捕集。HS-20 顶空进样器的捕集阱模式内置了电子冷却捕集阱，通过捕集浓缩可以对香气成分进行高灵敏度分析。即使含有水分的样品，HS-20 也可以对其中的低沸点到高沸点的化合物进行浓缩分析。

将 5 mL 蕃茄汁采集到 20 mL 顶空样品瓶中，加入 10 µL 10 µg/mL 的对氟溴苯 (甲醇) 内标物质。测试条件如表 1 所示。

表 1 测量条件

| | |
|-------------|--|
| 顶空进样器: | HS-20 |
| GC-MS: | GCMS-QP™2020 NX |
| 色谱柱: | SH-Stabilwax (Length 30 m, 0.32 mm I.D., df=0.50 µm) |
| [HS] | |
| 模式: | 捕集阱模式 |
| 捕集管: | Tenax™ TA |
| 柱温箱温度: | 40°C |
| 采样线温度: | 90°C |
| 传输线温度: | 150°C |
| 捕集阱冷却温度: | 0°C |
| 捕集阱加热温度: | 220°C |
| 捕集阱待机温度: | 0°C |
| 样品瓶搅拌: | 2 次 |
| 多次进样次数: | 5 次 |
| 样品瓶加压用气体压力: | 100 kPa |
| 干吹扫用气体压力: | 20 kPa |
| 样品瓶保温时间: | 10 min |
| 样品瓶加压时间: | 0.5 min |
| 加压平衡时间: | 0.1 min |
| 加载时间: | 0.5 min |
| 加载平衡时间: | 0.1 min |
| 干吹扫时间: | 2 分钟 |
| 进样时间: | 3 分钟 |
| 针冲洗时间: | 5 分钟 |
| 样品进样体积: | 5 mL |
| [GC] | |
| 载气: | He |
| 载气控制: | 线速度 (45.0 cm/sec) |
| 进样方法: | 分流 |
| 分流比: | 10 |
| 柱温箱温度: | 40°C (2 min) → (5°C /min) → 200°C (1 min) |
| [MS] | |
| 离子源温度: | 200°C |
| 接口温度: | 230°C |
| 电离方式: | EI |
| 扫描模式: | Scan (m/z 35 ~ 400) |
| 扫描间隔: | 0.3 s |

结果

图 1 所示为蕃茄汁的 TIC (总离子流图)。三种样品的共有化合物包括醛类 (乙醛、戊醛、糠醛等)、硫化物 (二甲基硫、二甲基二硫、二甲基三硫)、呋喃 (呋喃、2-甲基呋喃、2-戊基呋喃等)、酮类 (2-丁酮等)、萜烯类 (D-柠檬烯、对伞花烃等) 等等。

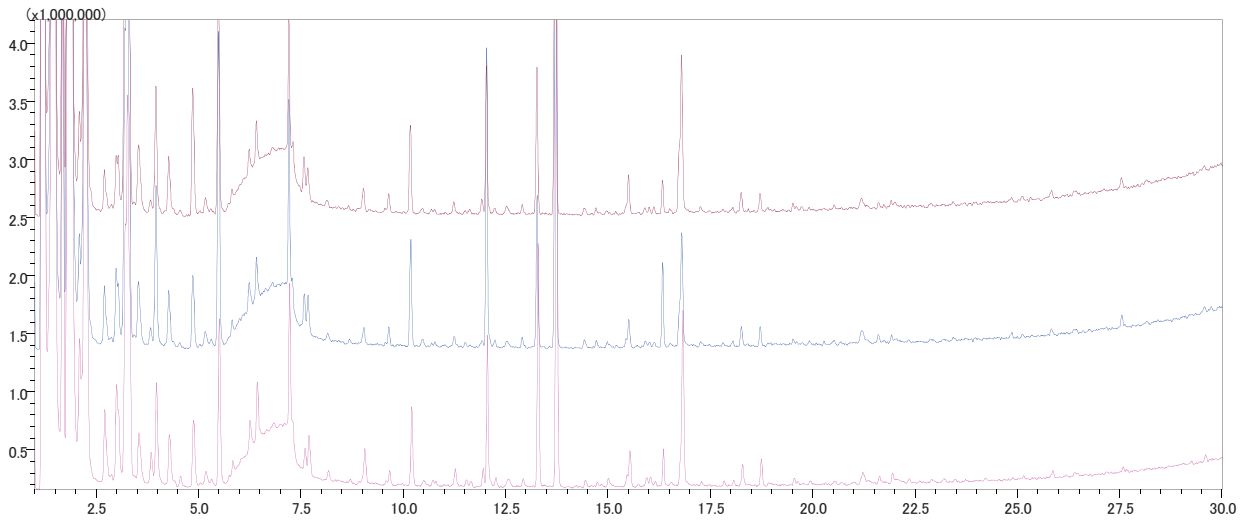


图 1 蕃茄汁的分析结果 (TIC)
棕色: 样品 1、蓝色: 样品 2、粉色: 样品 3

多元统计分析

AnalyzerPro (SpectralWorks 公司) 可以直接读取岛津 GC-MS 采集的数据, 进行了解卷积、峰检测、库检索和峰对齐到样品差异比对的整套多元统计分析处理。在多元统计分析中, 可以通过主成分分析 (PCA) 和对照组之间对比的火山图 (Volcano Plot), 发现具有统计学差异的成分。图 2 显示的是 AnalyzerPro 软件的分析界面。

通过 AnalyzerPro 进行分析时, 每个样品需采集 3 次数据, 检出的化合物浓度与 p- 氟溴苯内标对进行归一化处理。蕃茄汁样品分别标记为样品 1~3。只有样品 1 添加了食盐, 样品 3 则是采用高端品种的番茄制造。

对三个蕃茄汁样品的结果进行了主成分分析 (Principal Component Analysis: PCA)。本实验的 PCA 分析, 用于分析的每个成分至少在一种样品中得到了检出。图 3 和图 4 分别表示主成分分析的 Score Plot 及 Loading Plot 结果。第一主成分 PCA1 (横坐标) 为 58.5%、第二主成分 PCA2 (纵坐标) 为 16.2%。可以看出, 各样品群已明确分离, 证明不同种类的样品可以得到区分。

在 Loading Plot 中, 与 PCA 1 为正相关的成分, 倾向于在样品 3 中具有较高的含量, 而与 PCA 1 为负相关的成分倾向于在样品 1 和 2 中具有较高含量。在正相关成分中, 样品 3 中的吡嗪类及萜烯类等成分的含量高于其他两种样品。负相关的成分当中, 主要检出到氰苯等化合物。

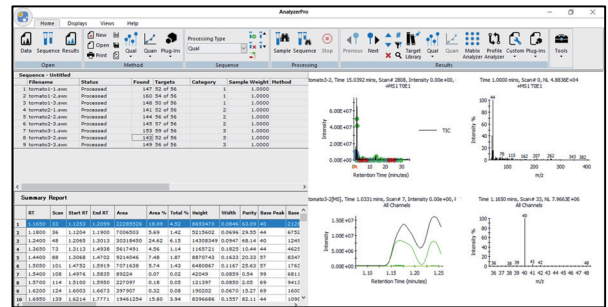


图 2 AnalyzerPro (Ver. 6.0) 的软件分析界面

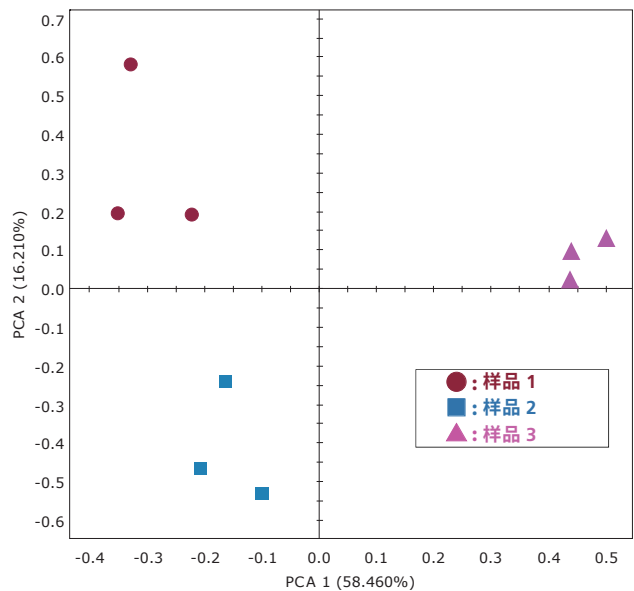


图 3 PCA 分析 Score Plot

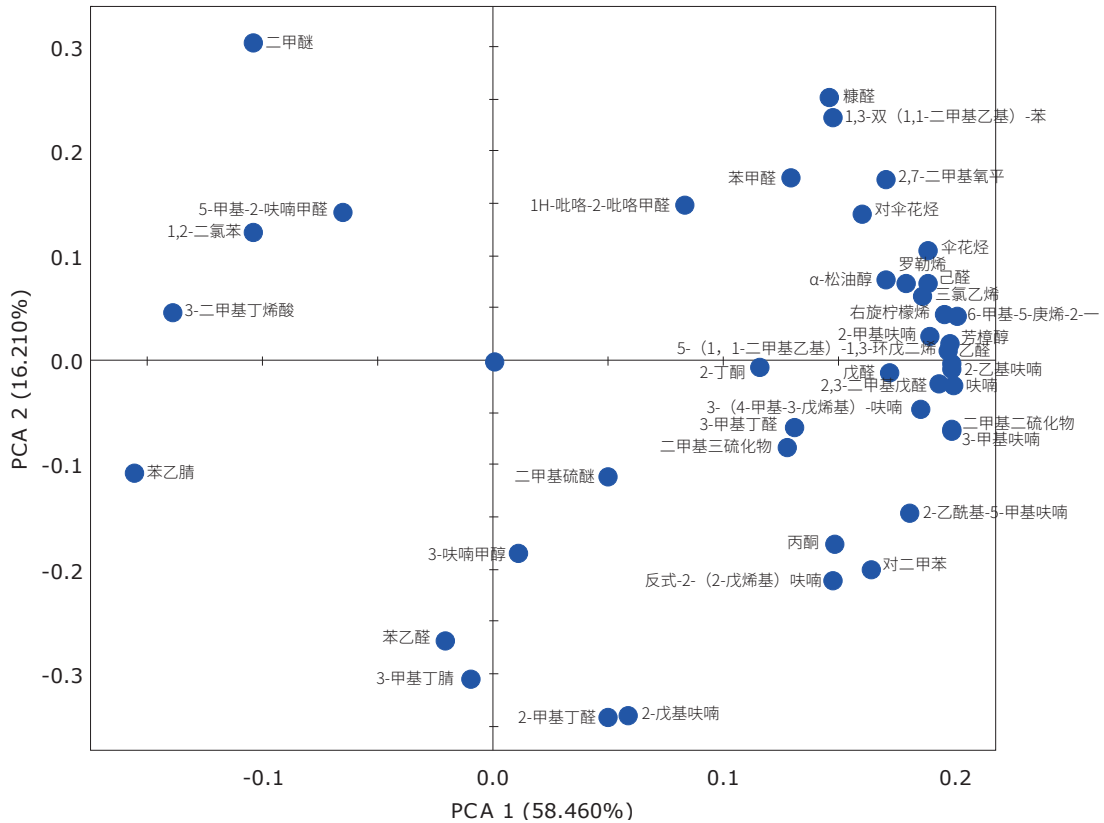


图 4 PCA 分析 Loading Plot

使用 Volcano Plot 对两组样品进行了比较，以发现样品之间的详细差异。Volcano Plot 可以通过对各自样本的平均面积进行划分和 t 检验，从而发现具有统计学差异的成分。

首先，图 5 所示为样品 1 和样品 2 的对照结果，它们在第一主成分 PCA1 中均呈负分布。

绿色三角是 p-value < 0.05 的成分，灰色倒三角是 p-value > 0.05 的成分。

p > 0.05 表明以醛类和萜烯类为代表的多种成分，在样品间没有明显差异。

p < 0.05 的成分是具有甜香味的呋喃类，这些成分在样品 2 中含量较高，但未见显著性差异。

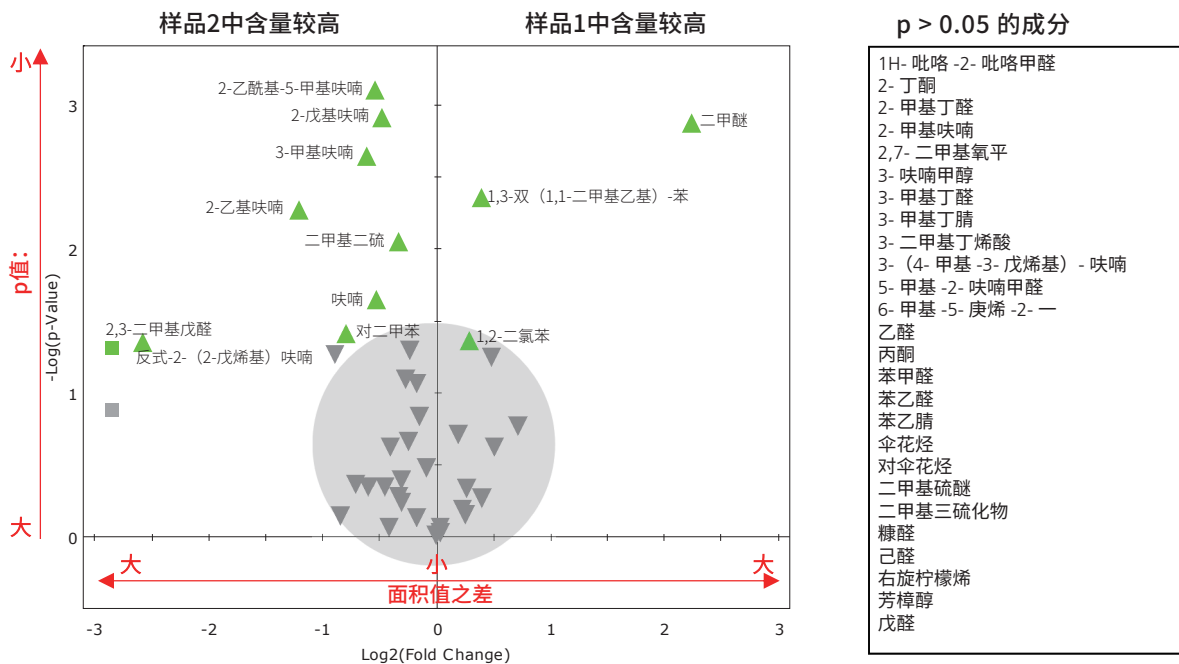


图 5 对照组 Volcano Plot (样品 1 和 2)

(绿色: p<0.05、灰色: p>0.05、△, ▽: 在两组样品中都含有。□: 只在一组样品中含有。)

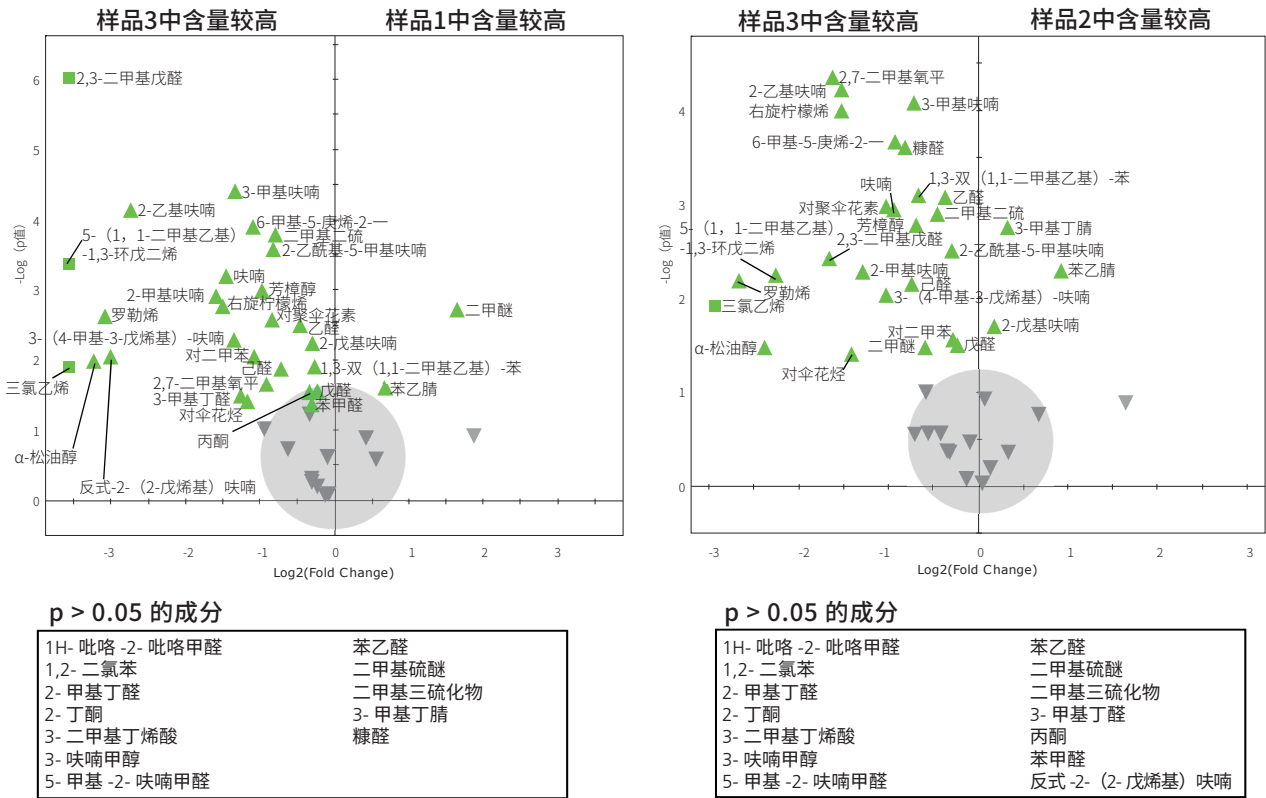


图 6. 对照组 Volcano Plot
 左：样品 1 与样品 3 的比较。右：样品 2 与样品 3 的比较。
 (绿色：p<0.05、灰色：p>0.05、△,▽：在两组样品中都含有。□：只在一组样品中含有。)

图 6 显示了样品 1 和 3 (左) 以及样品 2 和 3 (右) 的对照结果。如 PCA 分析结果表明,表明样品 3 中多数成分含量高于其他两种样品。在 p < 0.05 的成分中,在面积差异较大的成分当中,以 D-Limonene 为代表的单萜烯类及呋喃类成分在样品 3 中含量较高。单萜烯类是激发香气的头香,能够带来令人印象深刻的清爽的香气。

结论

采用 HS 捕集分析,通过 AnalyzerPro 软件进行非靶向多元统计分析,可以发现蕃茄汁的产品间差异性成分。通过这种方式,可以客观地评估品种、制造方法的差异对香气成分带来的影响。

GCMS、GCMS-QP 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。
 AnalyzerPro 是 SpectralWorks Ltd. 在日本及其他国家的商标。
 Stabilwax 是 Restek Corporation 在美国及其他国家的商标或注册商标。
 Tenax 是 Buchem B.V. 的商标。

岛津应用云



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