

フードメタボロミクス  
トリプル四重極質量分析計LCMS™-8060NXを  
用いたワインの分析（その2）

メタボロミクスとは、細胞の活動によって生じるアミノ酸や有機酸などの低分子の代謝物を網羅的に解析し複数の試料群における差異を明らかにする学術分野です。食品分野でもその技術を応用し、食品の品質や栄養的価値を探る手法（フードメタボロミクス）として利用されています。

近年、ビールを中心にノンアルコール飲料に注目が集まっています。より本物に近い味・風味を持たせるために、製法の改良とともに、香気性成分や呈味成分等の成分分析の重要性が増しています。ワイン業界でも本物に近いノンアルコールワインへの関心が高まる一方で、偽造ワインも問題視されています。偽造ワインとは、高級ワインに安価なワインを混ぜたり、ラベルだけを貼変えて販売されているワインを言います。

アプリケーションニュース No. C226 では、産地やブドウ品種が異なるワインをフードメタボロミクスにより分析し、ワインの発酵プロセスや味との関係性の評価に応用できることを紹介しました。本報告では、ノンアルコールワインとワインの違い、クオリティー（格付け）ワインとテーブル（デイリー）ワインの違いを明らかにするための高速液体クロマトグラフ質量分析計（LC/MS/MS）によるフードメタボロミクスの事例を紹介いたします。

T. Hattori, Y. Yamada

■ サンプル・前処理

ノンアルコールワイン、クオリティーワイン、テーブルワイン、クオリティーワインとテーブルワインを 50 : 50 の割合で混ぜたワインをサンプルとしました。

前処理は、ワインをメンブレンフィルターでろ過後、超純水で 100 倍希釈しました。希釈の際、内部標準物質として 1 μmol/L になるよう 2-Morpholinoethanesulfonic acid を添加しました。

■ 分析条件

LC/MS/MS メソッドパッケージ一次代謝物 ver.2 に含まれるイオンペアフリーLC/MS/MS 法を用いました。本分析法では、アミノ酸、有機酸、ヌクレオシド、ヌクレオチド等の親水性代謝物 97 成分の一斉分析が可能です。表 1 に HPLC および MS の分析条件を示しました。質量分析計は LCMS-8060NX を使用しました。LCMS-8060NX の IonFocus™ ユニット（図 1）は、イオン輸送用のフォーカス電極によりイオンのみを効率的に質量分析計に取り込み、不要な中性粒子を除去します。そのため、生体由来や食品のようなマトリックスが多いサンプルでも、高感度分析と高い装置頑健性を両立できます。詳細はアプリケーションニュース No. C226、C233 をご参照ください。

表 1 分析条件

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| [HPLC conditions] (Nexera™ X3) |   |
| Column                         | : Reversed-phase column   |
| Mobile phases                  | : A) 0.1 % Formic acid in water<br>B) 0.1 % Formic acid in acetonitrile |
| Mode                           | : Gradient elution  |
| Flow rate                      | : 0.25 mL/min   |
| Injection volume               | : 3 μL  |
| [MS conditions] (LCMS-8060NX)  |   |
| Ionization                     | : ESI (Positive and negative mode)                                      |
| Probe position                 | : +3 mm   |
| Mode                           | : MRM   |
| IonFocus voltage               | : ±2 kV   |
| Nebulizing gas flow            | : 3.0 L/min   |
| Drying gas flow                | : 10.0 L/min  |
| Heating gas flow               | : 10.0 L/min  |
| DL temp.                       | : 250 °C  |
| Block heater temp.             | : 400 °C  |
| Interface temp.                | : 300 °C  |

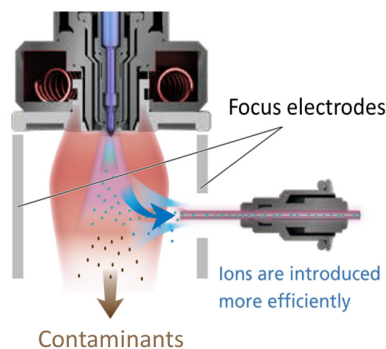
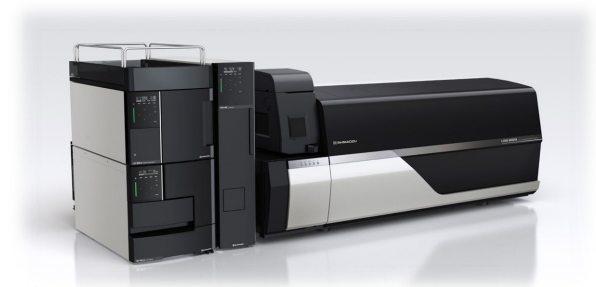


図 1 LCMS-8060NX および IonFocus ユニットのコンセプト

## ■メタボローム解析

LC/MS/MS 分析の結果、アミノ酸、有機酸、核酸系代謝物を中心に 67 成分が検出されました。内部標準物質に対する各成分のピーク面積比を用いて、主成分分析を Traverse MS™ ソフトウェアによって行いました。図 2 にスコアプロットおよびローディングプロットを示します。第 1 主成分軸で、ノンアルコールワインとワインを区別できました。ノンアルコールワインには、アルギニンやプロリン、4-ヒドロキシプロリン等のアミノ酸やクエン酸が多く含まれていました。ワイン中には、乳酸やコハク酸が多く含まれていました。第 2 主成分軸で、クオリティーワインとテーブルワインの違いを区別できました。クオリティーワインとテーブルワインを混ぜたサンプルは、両ワインのプロットの間中に位置しました。

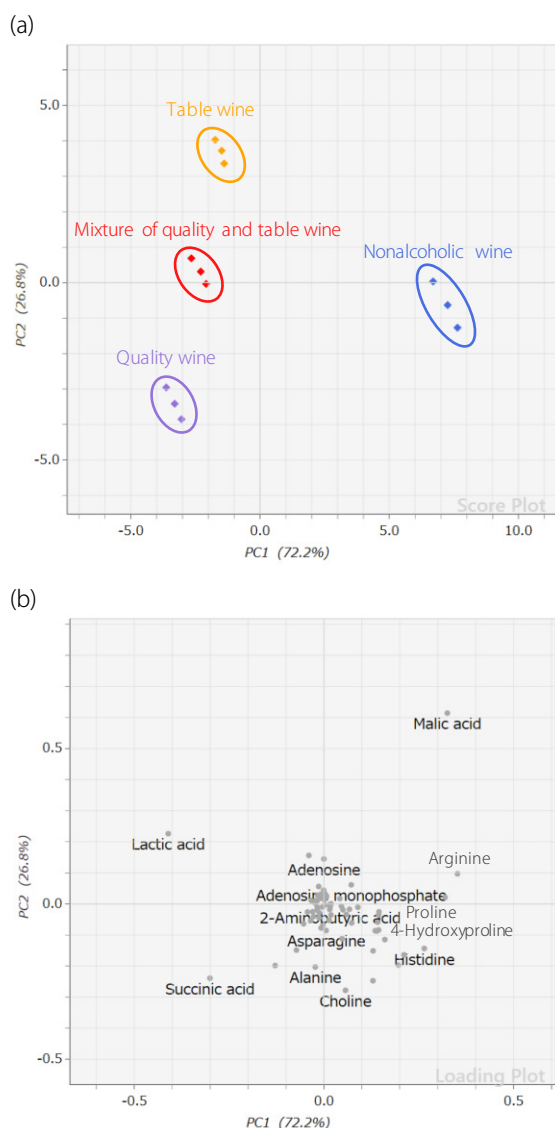


図 2 主成分分析結果  
(a)スコアプロット、(b)ローディングプロット

図 3 に、各ワインにおける乳酸とリンゴ酸のピーク面積比を示します。通常、ワインの発酵工程では、アルコール発酵後にマロラクティック発酵が起こり、乳酸菌によって果汁やワインの中に含まれるリンゴ酸が乳酸と二酸化炭素に分解されます。マロラクティック発酵によって、ワインの酸味がまるやかになると言われています。クオリティーワインはリンゴ酸よりも乳酸の割合が大きく、マロラクティック発酵が進んでいることが示唆されました。一方、ノンアルコールワインやテーブルワインは、リンゴ酸の割合が乳酸よりも大きく、マロラクティック発酵があまり進んでないと示唆されました。

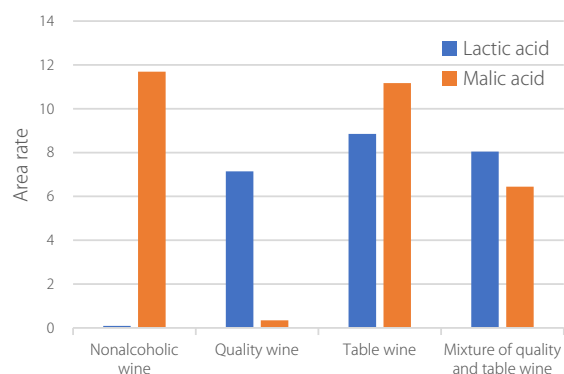


図 3 乳酸とリンゴ酸のピーク面積比

## ■まとめ

以上のように、ワイン中の親水性代謝物を網羅的に分析することによって、ノンアルコールワインとワインの違い、やクオリティーワインとテーブルワインの違いを明らかにできました。ノンアルコールワインの改良や偽造ワインを見分けるのにも、本分析手法は有用と考えられます。

LCMS、Nexera、IonFocus は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。  
Traverse MS は、ライフィクス株式会社の商標です。

**株式会社 島津製作所**

分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691  
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。  
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。