SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

No. M280A

GC/MS

ビール中代謝成分の網羅測定による品質評価法の検討

食品の品質評価の方法は、その食品種／調査目的によって極めて多岐にわたりますが、昨今では食品中に含まれる成分を網羅的に分析した後、多変量解析を行うことで対象食品の傾向を探る評価も広く行われるようになりました。アプリケーションニュース No. M271 では、日本酒のにおい成分と代謝成分を GC/MS による網羅的に分析し、得られたデータを多変量解析することにより、日本酒の品質評価を行いました。

本稿では銘柄の異なるビールを試料として、食品中代謝成分を測定し、識別の可否を検討しました。また、ビール等のアルコール飲料は、工場や生産ロット毎に味に差が出ることが知られています。今回、同一ブランドのビールにおいて、生産工場違いおよび生産ロット違いのビールを試料として、識別の可否についても示しました。

Y. Takemori, T. Sakai, Y. Higashi

■試料

それぞれのビール試料から代謝成分を抽出し、誘導体化を行って GC-MS 分析を行いました。試料 50 μL に内部標準物質として 2-イソプロピルリンゴ酸の水溶液（0.5 mg/mL）を 10 μL 添加し、徐タンパクを行い、親水性代謝物を抽出した後、濃縮遠心機にて十分に乾固させました。乾固後の残滓に、メトキシアミン塩酸塩／ピリジン溶液（20 mg/mL）を 80 μL 加え、30 ℃で 90 分振盪しました。続いて N–Methyl-N–(trimethylsilyl) trifluoroacetamide（MSTFA）を 40 μL 加え、37 ℃で 30 分振盪しました。この試料を GC-MS バイアルに導入し、分析しました。表 1 に分析したビール試料を示しました。

表 1　各実験に使用したビール試料

ビール試料	実験① 銘柄違いの比較	実験② 工場・ロット違いの比較
ラガービール A （a 工場）	○	○
ラガービール A （b 工場）		○
ラガービール A （c 工場）		○
ペールエール A （a 工場）	○	○
ペールエール A （b 工場、ロット a）		○
ペールエール A （b 工場、ロット b）		○
ペールエール A （b 工場、ロット c）		○
ペールエール B （a 工場、ロット a）	○	○
ペールエール B （a 工場、ロット b）		○
ペールエール B （a 工場、ロット c）		○
ペールエール C	○	
IPA ビール A	○	

■分析条件

本実験の装置構成および分析条件を表 2 に示しました。

表 2　装置構成および分析条件

装置	：トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-TQ™8040
オプションソフトウェア	：Smart Metabolites Database™
GC	
GC カラム	：DB-5（30 m×0.25 mm I.D., 1.00 μm）
キャリアガス	：He
気化室温度	：280 ℃
制御モード	：線速度（39.0 cm/秒）
注入方法	：スプリットレス
サンプリング時間	：1 分
パージ流量	：5.0 mL/分
オーブン温度	：100 ℃（4 分）→（10 ℃/分）→ 320 ℃（11 分）
MS（EI 法）	
イオン源温度	：200 ℃
インターフェース温度	：280 ℃
チューニングモード	：標準
測定モード	：MRM
ループ時間	：0.25 秒

■解析

GC-MS 分析の測定結果を使用し、多変量解析ソフトウェア SIMCA® 15（インフォコム社）により多変量解析を行いました。

■実験①の結果（銘柄違いの比較）

分析結果から、Smart Metabolites Database に登録されている化合物に関して、その定量／確認イオンおよび保持指標をもとにピーク同定を行いました。今回の分析ですべての試料で検出された 300 成分を用いて、主成分分析を行いました。その結果のスコアプロットを図 1 に示します。

5 種類の試料はスコアプロット上で十分に分離しました。また、そのローディングプロットを図 2 に示します。ローディングプロットから特定できた、各ビールに相対的に多く含有する成分を表 3 に示しました。IPA ビール A およびペールエール C では特定の糖類が他のビールより相対的に多く含有されていることが確認できました。

GCMS-TQ8040　NX の外観写真

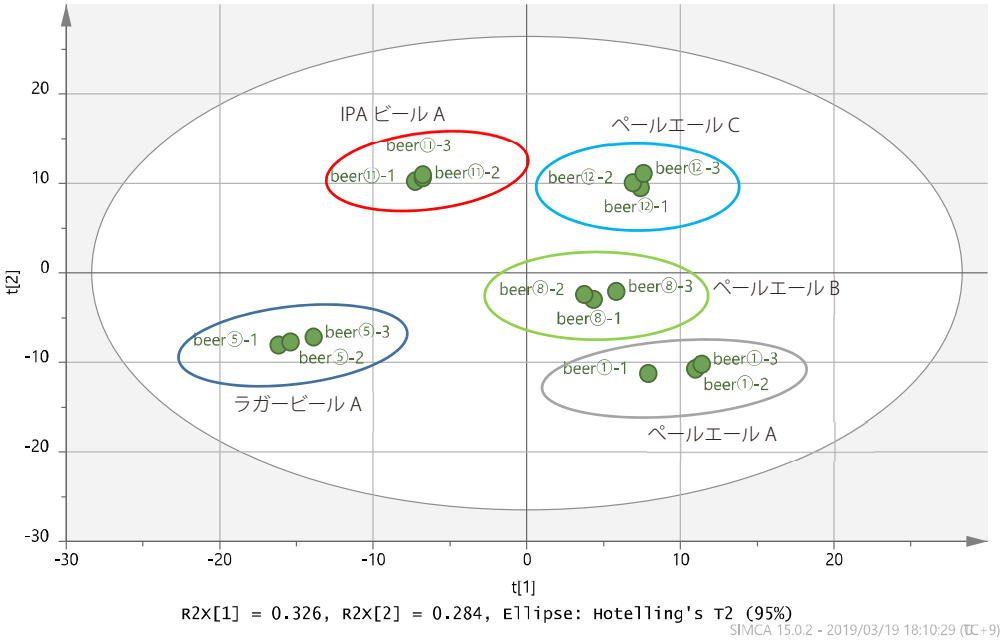

図 1　銘柄違いのスコアプロット

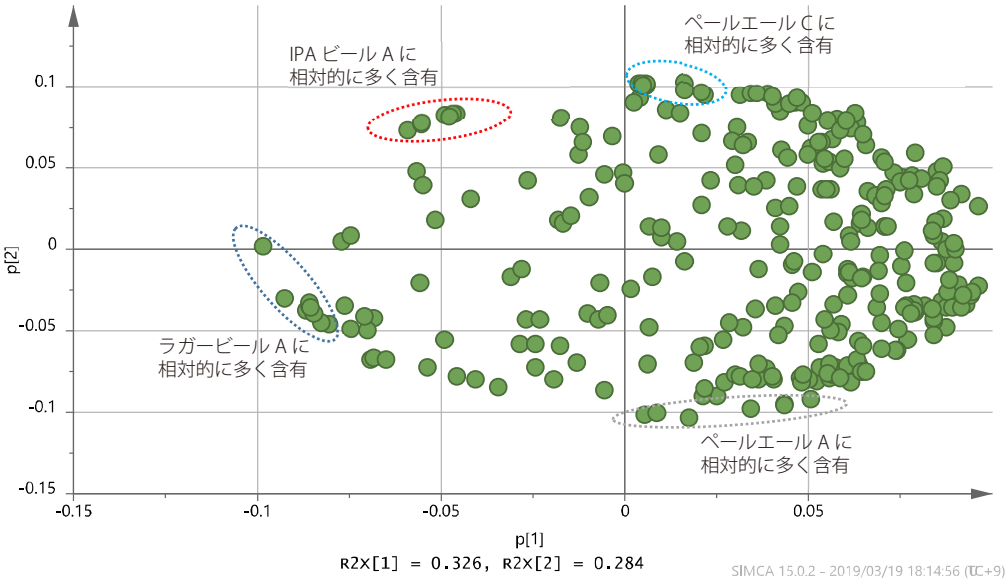

図 2　銘柄違いのローディングプロット

表 3　各ビールに相対的に多く含有する成分

ビールサンプル	各ビールに相対的に多く含有する成分	ビールサンプル	各ビールに相対的に多く含有する成分
ラガービール A	Phenylpyruvic acid Glutaric acid Lyxose Xylose Arabinose Threo-b-hydroxyaspartic acid 2-Ketoglutaric acid 2-Hydroxyglutaric acid	ペールエール C	Galactose Galacturonic acid Glucose Mannose Erythrulose Homogentisic acid Glucuronic acid Asparagine
ペールエール A	Maleic acid Cadaverine Maltitol 4-Aminobutyric acid Dopamine Tryptophan Oxalic acid	IPA ビール A	Sebacic acid Fructose Sorbose Tagatose Psicose

■実験②の結果(工場・ロット違いの比較)

実験①と同様の方法で、ピーク同定および主成分分析を行いました。その結果のスコアプロットを図 3 に示します。3 銘柄のビールがスコアプロット上で十分に分離しました。さらに、ラガービール A では 3 工場のビールが分離し、ペールエール A では、a 工場、b 工場で分離し、b 工場ではロット違いの 3 種類のビールも分離しました。ペールエール B につきましては、ロット違いで大きく分離しませんでした。次に類似度の見える化のため、階層的クラスタリング解析を行い、それより作成した樹形図を図 4 に示します。樹形図では更に各ビールの差異が分かりやすく確認できました。

これらの結果より、工場や生産ロットの品質の差の見える化を行うことができ、品質差の客観的な指標や、品質の調整として利用できる可能性が示唆されました。

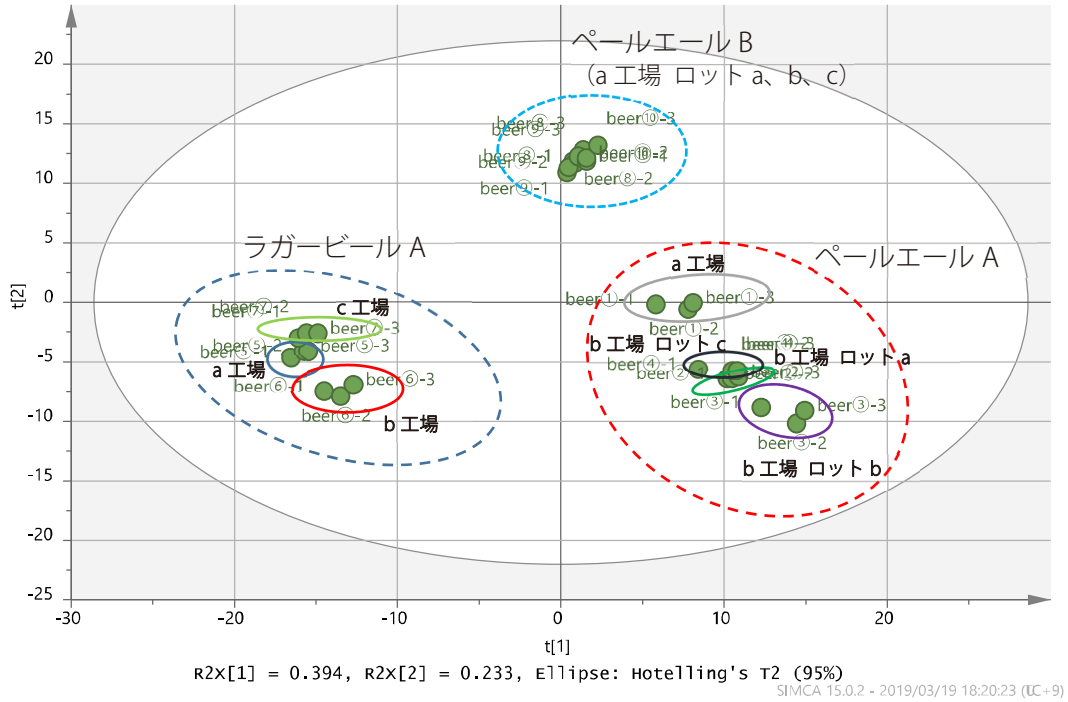

図 3　3 種類の銘柄における、工場・ロット違いのスコアプロット

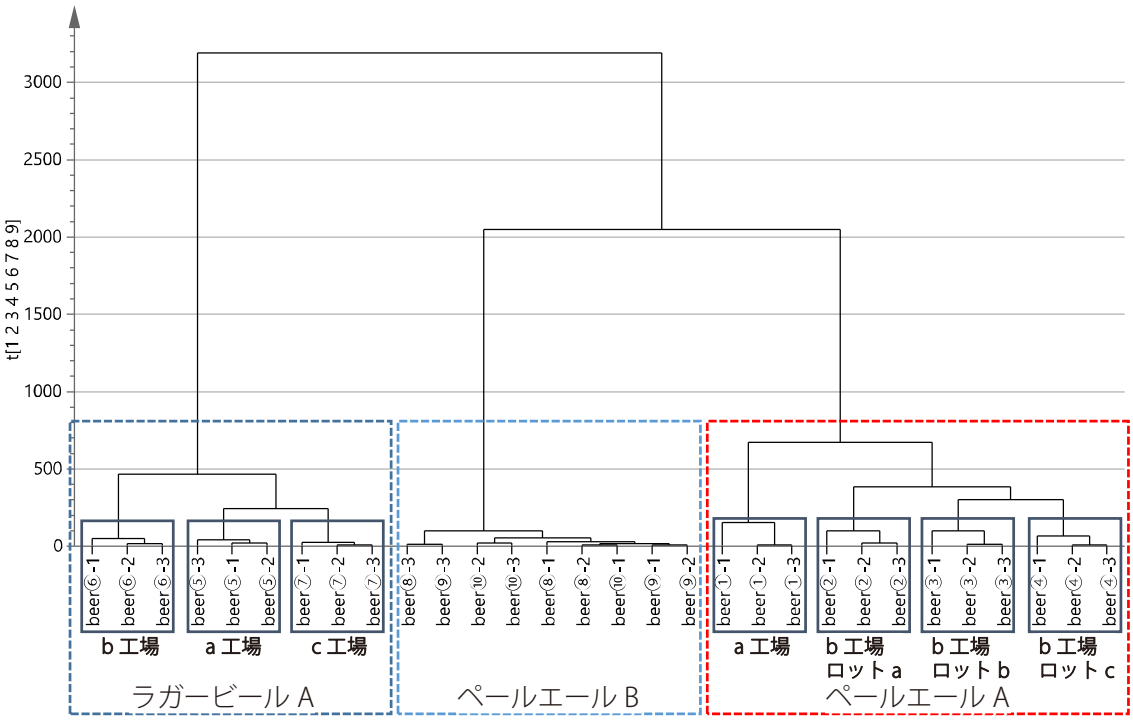

図 4　3 種類の銘柄における、工場・ロット違いの樹形図

更に、同じ銘柄における工場違い、ロット違いのビールでどのような成分が品質の差に寄与しているかを確認するために、ペールエール A のみを主成分分析を行いました。その結果のスコアプロットを図 5 に、ローディングプロットを図 6 に示します。更にローディングプロットから特定できた、各ビールに相対的に多く含有する成分を表 4 に示しました。これらの結果より、a 工場では b 工場より特定の糖類の代謝物が相対的に多く含有していることが確認できました。

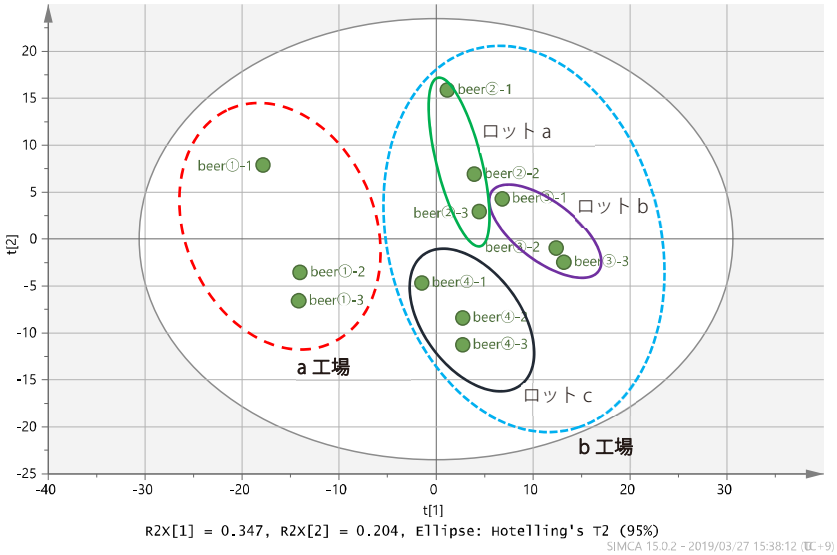

図 5　エール A のスコアプロット

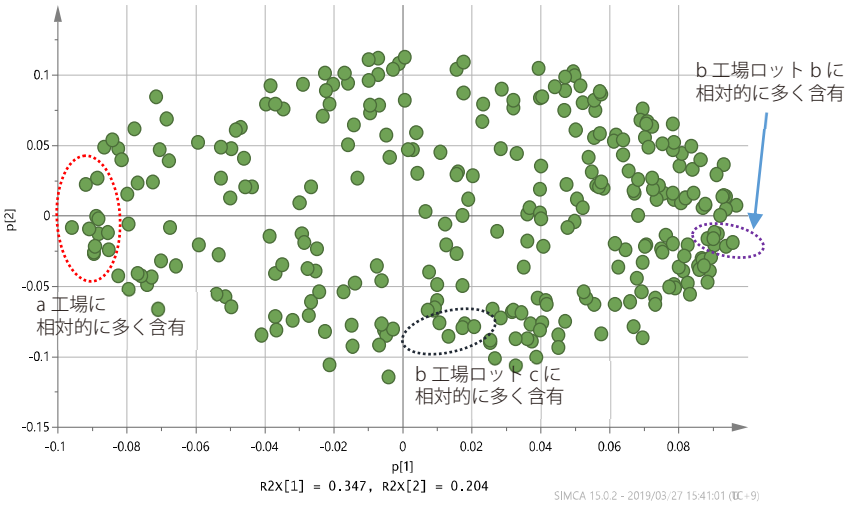

図 6　ペールエール A のローディングプロット

表 4　各ビールに相対的に多く含有する成分

ビール試料	各ビールに相対的に多く含有する成分	ビール試料	各ビールに相対的に多く含有する成分
a 工場	3-Phenyllactic acid, Trehalose, Glyceric acid, Fructose 1-phosphate, Nonanoic acid 2-Hydroxyisobutyric acid, Caproic acid Glucose 6-phosphate, Sedoheptulose 7-phosphate Mannose 6-phosphate, Glucose 6-phosphate	b 工場	Allose, Lysine, Tyramine, Methionine Glutamic acid, Galactose Phenylpyruvic acid, Tryptamine 2'-Deoxyuridine, Cystamine-d8 Uridine

■まとめ

銘柄の異なるビールをサンプルとして代謝成分を測定し多変量解析を行うことにより、それぞれのビール銘柄の識別ができました。更に各ビール銘柄に多く含有している代謝物を確認することができました。

また、同一銘柄の生産工場違いおよび生産ロット違いのビールを試料として、同様の測定・解析により、品質差異の見える化を行うことができました。更に、品質差異を生じさせている重要成分を特定することができました。

<謝辞>
本測定を行うにあたり、ご協力いただいた有限会社 二軒茶屋餅角屋本店　鈴木成宗社長、佐々木基岐氏に感謝いたします。

GCMS-TQ および Smart Metabolites Database 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。
SIMCA は、Sartorius Stedim Data Analytics AB の登録商標です。

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：2019 年 6 月
A 改訂版発行：2019 年 8 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。