

Application News

ホップ中のα酸およびβ酸の高速分析

森田 あずさ

ユーザーベネフィット

- ◆ ホップ中のα酸とβ酸を1分析あたり約5分で分析できます。
- ◆ コアシェルテクノロジーを採用したShim-pack Velox™カラムを用いることで、システム負荷圧を抑えて分析可能です。
- ◆ 同じ装置構成で、α酸とβ酸に加えてイソα酸も同時分析可能です。

はじめに

ビールの原料であるホップにはα酸（フムロン類）、β酸（ルブロン類）が含まれています。α酸は醸造工程で異性化されることによりビール中の苦味成分であるイソα酸（イソフムロン類）に変化します。β酸はビールの苦味の強さには大きく関係しないものの、苦味のバランスに影響すると言われています。イソα酸にはアルツハイマー病の予防効果や認知機能低下を改善する効果があることが報告されており、ビール以外の応用が注目されています。

一般に、α酸およびβ酸の分析にはHPLCが用いられ、分析時間は通常30分程度がかかります。

本稿では、EBC（European Brewery Convention）7.7およびASBC（American Society of Brewing Chemists）Hops-14を参考に、高速液体クロマトグラフNexera XRによるホップ中のα酸およびβ酸の高速分析例を紹介します。また、ホップ抽出液にイソα酸を添加した分析例も合わせてご紹介します。

α酸、β酸の標準溶液の分析

ホップ中に含まれるα酸、β酸の構造式を図1に示します。α酸、β酸それぞれに3つの同族体が存在します。標準溶液調製用の試薬には、“International Calibration Extract 4”（ASBCまたはLabor Veritasより購入）を用いました。表1に試薬の組成を示します。試薬0.5 gをメタノールに溶解させて全容100 mLとし、さらにこの溶液を10 mLとり全容50 mLにし、孔径0.22 μmのメンブランフィルターでろ過し調製しました。図2に標準溶液のクロマトグラムを示します。標準溶液調製用の試薬自体に複数の同族体が含まれるため、α酸、β酸をそれぞれグルーピングしています。分析条件を表2に示します。なお、本分析でのシステム負荷圧は最大約26 MPaでした。分析カラムにコアシェルテクノロジーを採用したShim-pack Veloxを用いることで、カラムにかかる圧力が高くなりやすいメタノールを用いても低い負荷圧で分析可能です。

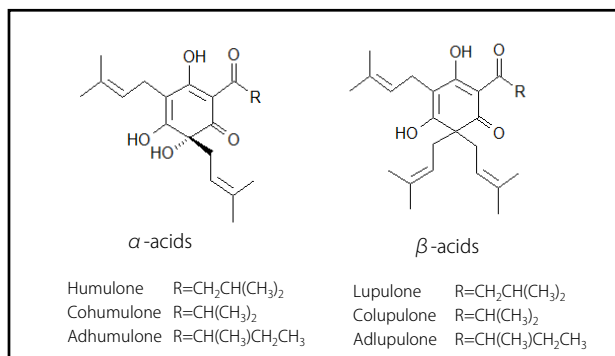


図1 α酸、β酸の構造式

表1 標準溶液調製用の試薬

試薬名	組成
International Calibration Extract 4	Cohumulone 10.98% N+adhumulone 31.60% Total α-acids 42.58%
	Colupulone 13.02% N+adlupulone 13.52% Total β-acids 26.54%

表2 分析条件

System	: Nexera XR
Column	: Shim-pack Velox C18 (50 mm × 3.0 mm I.D., 1.8 μm) *1
Mobile phase A	: 10 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH2.6)+ 0.2 mmol/L EDTA·2 Na aq.
Mobile phase B	: Methanol
Flow rate	: 0.7 mL/min
Time program	: B Conc. 80 %(0 min)-90%(3 min)-80 %(3.01-5 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection vol.	: 2 μL
Detection	: UV 314 nm (SPD-M40), Standard cell
Vial	: Shimadzu Vials, LC, 1.5 mL Clear Glass *2

*1 P/N : 227-32008-01, *2 P/N : 227-34001-01

Mobile phase A : Sodium dihydrogen phosphate dihydrate 5 mmol (0.78 g) and phosphoric acid (85%, 14.7 mol/L) 5 mmol (0.34 mL) and EDTA·2Na 0.074 g are dissolved in 1L deionized water.

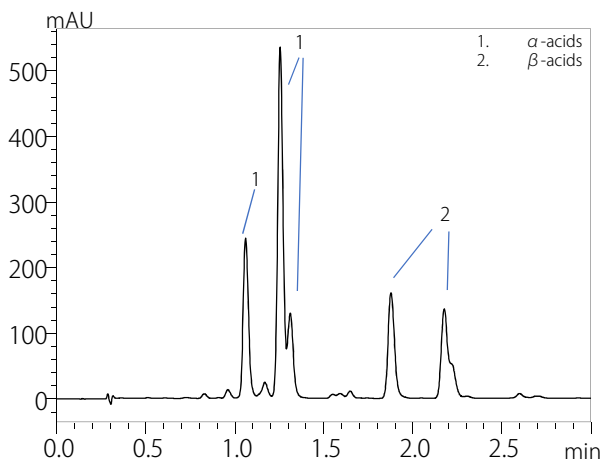


図2 標準溶液のクロマトグラム

ホップ中のα酸およびβ酸の分析

市販のホップペレット2種類を溶媒抽出し、分析しました。前処理方法を図3に、クロマトグラムを図4と5に示します。

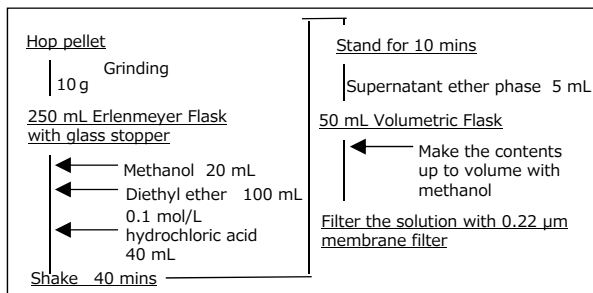


図3 前処理方法

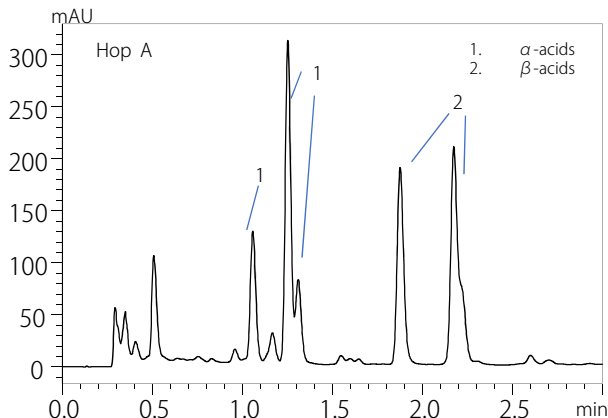


図4 ホップAのクロマトグラム

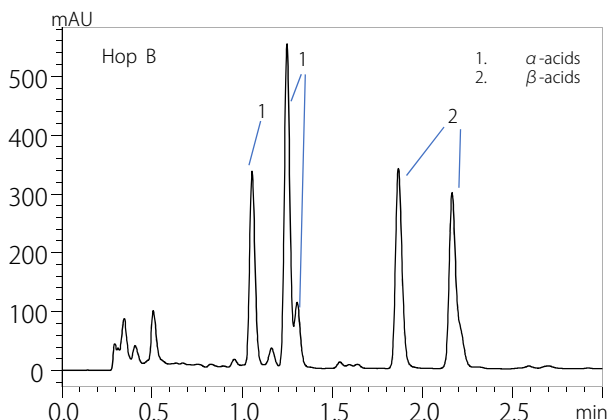


図5 ホップBのクロマトグラム

$$C_i = (DF \times M_{CS} \times C_{iC} \times A_i) / (M_s \times A_{iC})$$

where:

- C_i = concentration of component i in the sample expressed as percent by weight
- DF = dilution factor, DF = 2 for hops and hop powder products
- M_{CS} = weight of the calibration standard in g
- C_{iC} = concentration of component i in the calibration standard expressed as percent by weight
- A_i = peak area of component i from the sample run (average)
- M_s = weight of the sample in g
- A_{iC} = peak area of component i from the calibration run (average)

図6 定量値算出法

図3に示した前処理を6回行い、図6の計算式に従って定量値を算出しました。標準溶液の1/10濃度を振とう前の溶媒に標準添加し、添加回収試験を行いました。結果を表3に示します。定量値と添加回収率は6回繰り返し分析を行った際の平均値を示します。

Nexera、Shim-pack Veloxi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。

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

01-00025-JP 初版発行：2021年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

表3 定量結果と添加回収率(N=6)

Sample	Concentration (%)		Relative standard deviation of concentration (%RSD)		Addition recovery rate (%)		Relative standard deviation of recovery rate (%RSD)	
	α-acids	β-acids	α-acids	β-acids	α-acids	β-acids	α-acids	β-acids
Hop A	5.1	14.3	1.4	1.2	98	90	1.1	1.0
Hop B	9.5	24.0	1.4	1.3	102	97	2.4	2.4

■ イソα酸、α酸、β酸の同時分析

図3に従って前処理したホップAの抽出液に、イソα酸200 mg/Lを添加して分析しました。イソα酸標準溶液の調製については、L590をご参照ください。表2の条件でフォトダイオードアレイ検出器の検出波長に270 nmを追加し、グラジエントのタイムプログラムをB Conc. 60%(0 min)-100%(3 min)-60%(3.01-5 min)に変更しました。図7と図8にクロマトグラムを示します。イソα酸の添加回収率は99.7%と良好な結果が得られました。

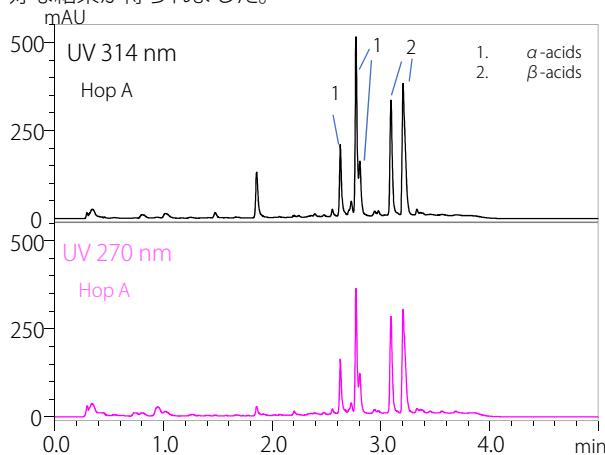


図7 ホップAのクロマトグラム(イソα酸未添加)

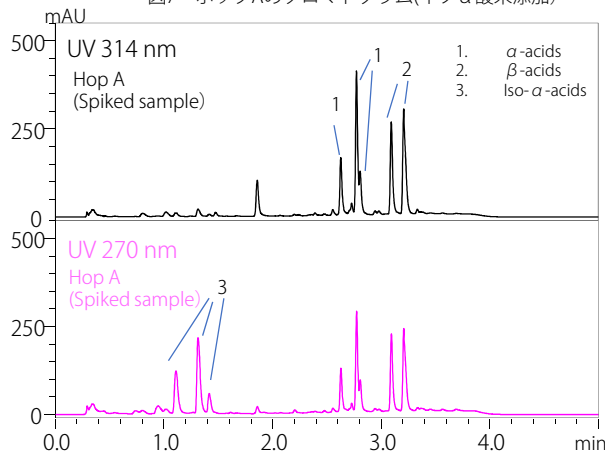


図8 ホップAのクロマトグラム(イソα酸添加)

■ まとめ

本稿ではNexera XRIによる、ホップ中のα酸、β酸の高速分析例を紹介しました。EBCとASBCを参考にα酸とβ酸をホップペレットから抽出し、定量値の計算を行いました。またグラジエントのタイムプログラムの変更と検出波長を追加することにより、α酸およびβ酸に加えて、イソα酸も同時分析可能です。

参考文献

- 1) American Society of Brewing Chemists, ASBC Methods of Analysis, Hops-14
- 2) European Brewery Convention, EBC ANALYTICA, 7.7

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
閲覧には、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/>

▶ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ Nexera™シリーズ
超高速液体クロマトグラフ

関連分野

▶ 食品・飲料

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ