

シングル四重極質量分析計を用いた ノンシュガー飲料中の糖類の一斉分析

岩田 奈津紀、川嶋 美帆

ユーザーベネフィット

- ◆ LCMS-2050は、示差屈折率検出器や蒸発光散乱検出器より高選択かつ高感度に糖類を検出できます。
- ◆ マトリクスの影響を受けず、微量に含まれる糖類を一斉に定量できます。

はじめに

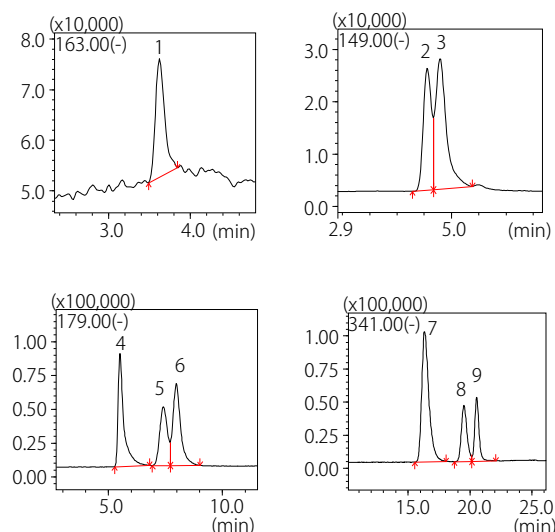
2015年に世界保健機関（WHO）は1日あたりの糖類摂取量を25 g未満に抑えるべきであるという指針を発表しました¹⁾。また、日本の消費者庁の食品表示基準に規定されている基準値として、飲料中の糖類の含有量は100 mLあたり0.5 g未満であれば、「ノンシュガー」や「糖類ゼロ」などと表示できます²⁾。

糖は紫外吸収をほとんど持たないため、糖分析においては示差屈折率（RI）検出器や蒸発光散乱検出器（ELSD）などの選択性の乏しい検出器が多用されます。しかし、分析対象がノンシュガー飲料のように低濃度の場合には、選択性が高く高感度検出が可能な質量分析計が有効です。

ここでは、親水性相互作用クロマトグラフィー（HILIC）とシングル四重極質量分析計LCMS-2050を用いてノンシュガー飲料中の糖類を分離定量した例をご紹介します。

混合標準溶液の分析

対象成分は、単糖および二糖の9成分です。図1に9成分混合標準溶液（各0.5 mg/L、75%アセトニトリル水溶液で調製）のクロマトグラムを、表1と表2に分析条件を示します。グラジエント溶離法により、約22分で9成分を溶出できました。



■ Peaks 1. Rhamnose, 2. Arabinose, 3. Xylose, 4. Fructose, 5. Galactose, 6. Glucose, 7. Sucrose, 8. Lactose, 9. Maltose

図1 混合標準溶液（各0.5 mg/L）のクロマトグラム

表1 HPLC分析条件

System	: Nexera™ XR
Column	: Shodex HILICpak VG-50 2D (150 mm × 2.0 mm I.D., 5 μm)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Mobile phase	: A) 2.5 mmol/L Ammonium bicarbonate aq. B) 25 mmol/L Ammonium bicarbonate aq. / Acetonitrile=10:90
Time Program	: 99%B (0-11 min)→77%B (23-27 min) →99%B (27.1-38 min)
Mixer	: 180 μL
Column temp.	: 45 °C
Injection volume	: 1 μL
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass*1

*1 P/N: 227-34001-01

表2 MS分析条件

Ionization	: ESI/APCI (DUIS™), Negative mode
Mode	: SIM (<i>m/z</i> 149, 163, 179, 341)
Nebulizing gas flow	: 3.0 L/min
Drying gas flow	: 5.0 L/min
Heating gas flow	: 7.0 L/min
Desolvation temp.	: 400 °C
DL temp.	: 150 °C
Interface voltage	: -2.0 kV

再現性

表3に、各0.5 mg/Lの混合標準溶液について、6回繰り返し分析における保持時間と面積の再現性(%RSD)を示します。

表3 6回繰り返し分析における再現性 (%RSD)

Compound	Retention time	Peak area
Rhamnose	0.44	4.71
Arabinose	0.43	3.35
Xylose	0.49	3.42
Fructose	0.52	2.46
Galactose	0.53	2.60
Glucose	0.61	1.90
Sucrose	0.37	3.40
Lactose	0.16	2.09
Maltose	0.14	2.21

■ 検量線

対象の9成分について検量線を作成したところ、いずれも寄与率 $r^2=0.998$ 以上と良好な直線性が得られました。図2に、代表してラムノースとアラビノースの検量線を、表4に全成分の検量線濃度範囲と寄与率を示します。

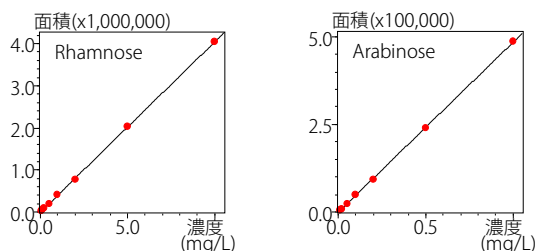


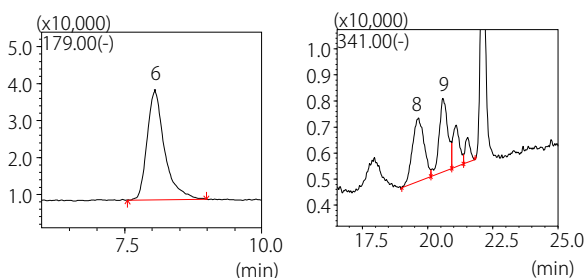
図2 検量線

表4 検量線濃度範囲と寄与率 (r^2)

Compound	m/z	Conc. range (mg/L)	r^2
Rhamnose	163	0.05-10	0.999
Arabinose	149	0.01-1	0.999
Xylose	149	0.01-1	0.999
Fructose	179	0.005-1	0.998
Galactose	179	0.01-1	0.998
Glucose	179	0.01-1	0.998
Sucrose	341	0.005-1	0.999
Lactose	341	0.01-1	0.999
Maltose	341	0.01-1	0.999

■ ノンシュガー飲料の分析

市販の4種類の炭酸ガスを含むノンシュガー飲料を5分間脱気後、0.2 μm のメンブランフィルターでろ過しました。次いで、75%アセトニトリル水溶液で1000倍希釈したものを試料としました。図3にノンシュガー飲料Aのクロマトグラムを、表5に定量結果を示します。いずれの飲料も糖類の含有量は100 mL中0.5 g未満でした。



■ Peaks 6. Glucose, 8. Lactose, 9. Maltose

図3 ノンシュガー飲料Aのクロマトグラム

表5 定量結果

Compound	Concentration ^{*2} (mg/L)			
	A	B	C	D
Fructose	n.d.	n.d.	n.d.	0.021
Glucose	0.228	0.225	0.100	0.017
Lactose	0.028	0.033	n.d.	n.d.
Maltose	0.031	0.028	n.d.	n.d.
Total	0.287	0.286	0.100	0.038
Content (g/ 100 mL)				
	A	B	C	D
Total	0.029	0.029	0.010	0.004

*2 n.d.: not detected

■ 添加回収試験

前処理後の試料溶液に0.5 mg/Lとなるように糖類の標準溶液を添加した試料を測定しました。表6に各成分の添加回収率を示します。全ての成分において、概ね90~110%以内の良好な結果が得られ、マトリクス下においても正確に定量できることが確認されました。

表6 添加回収率 (%)

Compound	Recovery rates (%)			
	A	B	C	D
Rhamnose	107.4	105.8	102.0	99.1
Arabinose	101.3	99.7	102.6	112.1
Xylose	96.8	99.0	103.2	105.5
Fructose	100.0	99.2	100.7	107.8
Galactose	96.0	100.4	103.2	109.6
Glucose	90.7	89.9	94.3	105.0
Sucrose	104.8	103.4	103.6	104.4
Lactose	105.6	100.5	102.7	105.0
Maltose	104.3	105.3	103.4	108.1

■ まとめ

シングル四重極質量分析計LCMS-2050を用いることで微量の糖類を分離定量することができました。LCMS-2050は、ノンシュガー飲料市場をはじめとする食品分野の研究開発に役立つことが期待されます。

[参考文献]

- Guideline: Sugars Intake for Adults and Children. Geneva: World Health Organization; 2015.
- 食品表示基準 (平成27年内閣府令第10号)

Nexera, LCMS, SHIMADZU LabTotalおよびDUIIS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。