

シングル四重極質量分析計を用いた 植物由来のオリゴ糖・多糖類プロファイリング

服部考成、岩田奈津紀

ユーザーベネフィット

- ◆ シングル四重極LC-MSを用いることで、40量体までのオリゴ糖・多糖類の一斉分析が可能です。
- ◆ 広い質量範囲を有するLCMS-2050でオリゴ糖・多糖類を網羅分析することにより、重合度別のオリゴ糖・多糖類プロファイリングが可能です。

■はじめに

メタボロミクスの技術を食品に応用した「フードメタボロミクス」は、近年、食品の品質鑑定や品質予測、製造・保管工程の改善、機能性の評価など様々な目的に利用され始めています。食品には非常に多くの代謝物が含まれますが、これまでの研究から、風味や品質、機能性にかかわる代謝物の多くが明らかになっています。そのため、フードメタボロミクスでは対象成分を決めたターゲット分析が一般的です。重要な成分に絞り網羅的に解析することで、有益な結果を効率的に得ることができます。アプリケーションニュース01-00420-JPでは、シングル四重極LC-MSを用いたフードメタボロミクスの事例として、アルコール飲料中のオリゴ糖・多糖類プロファイリングをご紹介します。オリゴ糖は、栄養やおいしさだけでなく、善玉菌を増やし腸内環境を良くする効果も知られています。

本報告では、アプリケーションニュース01-00420-JPと同じ分析条件で、植物由来のオリゴ糖・多糖類を網羅的に分析・プロファイリングした事例を紹介いたします。

■ サンプル、前処理

市販のイソマルトオリゴ糖シロップ、フラクトオリゴ糖シロップ、ヤーコン粉を分析しました。オリゴ糖シロップは、超純水で200倍に希釈したものを試料としました。ヤーコン粉は、以下のように前処理しました。ヤーコン粉9.28 mgに超純水928 µLを加え、ボルテックスミキサーで攪拌（1 min）後、超音波抽出（10 min）し、遠心分離しました（14,000 rpm, 10 min, 4℃）。除タンパクのために、上清200 µLにアセトニトリル800 µLを加え、ボルテックスミキサーで攪拌（1 min）後、遠心分離しました（14,000 rpm, 10 min, 4℃）。除タンパク後の上清100 µLに超純水100 µLを加えたものを試料としました。

■ 分析条件

超高速液体クロマトグラフ Nexera™ XRとシングル四重極質量分析計 LCMS-2050を用いました（図1）。LCMS-2050は、コンパクトでありながら、使いやすさや性能面にも秀でたシングル四重極質量分析計です。ESI法とAPCI法、両方の長を有するイオン化である加熱型DUIS™を搭載し、質量範囲は m/z 2-2000まで対応しています。幅広い物性の代謝物を分析対象とするメタボロミクスでは特に有用です。

表1にHPLCおよびMSの分析条件を示します。アプリケーションニュース01-00420-JPと同じ条件で、六炭糖の単糖で構成されるオリゴ糖・多糖類を対象成分とし、40量体までのSIMの一斉分析系を構築しました。測定可能な質量範囲と感度の観点から、DP10までのオリゴ糖は1価イオンで、DP11以上の多糖類は2価または3価イオンで分析しました（DP：構成単糖の数）。



図1 Nexera™ XRおよびLCMS™-2050

表1 分析条件

[HPLC conditions] (Nexera XR)	
Column	: Shodex Asahipak NH2P-40 3E (250 mm × 3.0 mm I.D., 4.0 µm)
Flow rate	: 0.3 mL/min
Mobile phases	: A) 2.5 mmol/L Ammonium bicarbonate aq. B) 25 mmol/L Ammonium bicarbonate aq. / Acetonitrile=10:90
Time program	: 70%B (0 min)→40%B (25 min) →70%B (25.01-30 min)
Mixer	: 20 µL
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 µL
[MS conditions] (LCMS-2050)	
Ionization	: ESI/APCI (DUIS), Negative mode
Mode	: SIM (40 events)
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

■オリゴ糖シロップ、ヤーコン粉の分析

図2にイソマルトオリゴ糖シロップとフラクトオリゴ糖シロップのマスクロマトグラムを示します。イソマルトオリゴ糖シロップでは、イソマルトオリゴ糖由来と思われるオリゴ糖・多糖類（最大24量体）が検出されました。フラクトオリゴ糖シロップでは、フラクトオリゴ糖由来と思われるオリゴ糖（最大7量体）が検出されました。

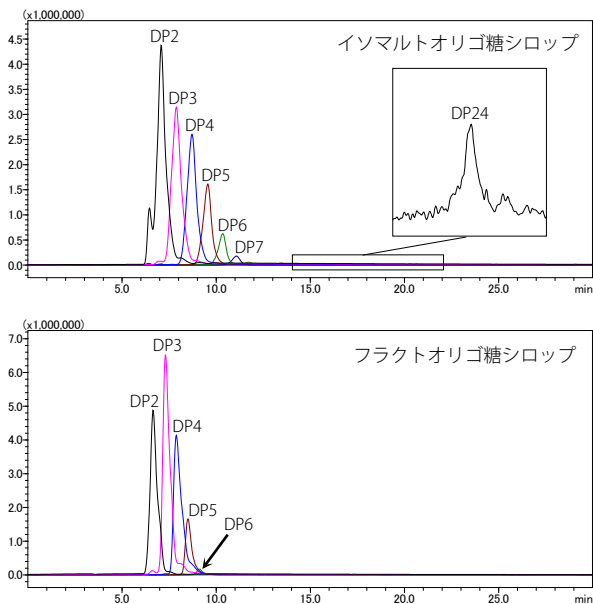


図2 オリゴ糖シロップのマスクロマトグラム

アンデス高原原産のヤーコンは、塊根に大量のフラクトオリゴ糖が含まれています。図3にヤーコン粉抽出液のマスクロマトグラムを示します。フラクトオリゴ糖由来と思われるオリゴ糖・多糖類（最大で17量体）が検出されました。

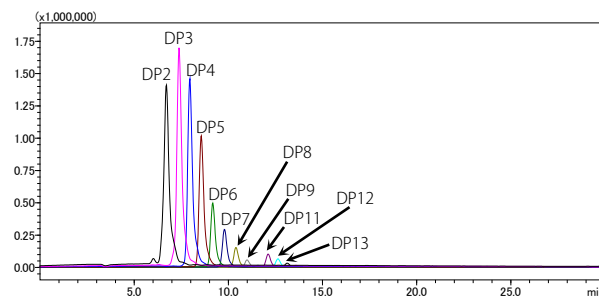


図3 ヤーコン粉抽出液のマスクロマトグラム

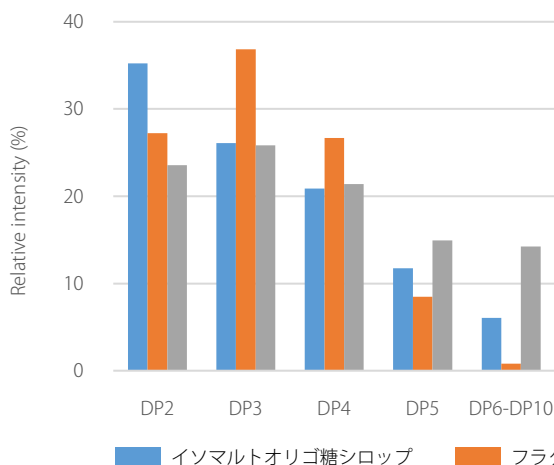
■オリゴ糖・多糖類の重合度別割合

糖質のうち、単糖類、オリゴ糖は一般的に甘味を呈しますが、重合度が大きくなるほど甘味が少なくなると言われています。また、オリゴ糖は腸内で善玉菌を増やすプレバイオティクスとしてよく知られていますが、オリゴ糖の種類や重合度によっても効果が変わります。各オリゴ糖シロップ、ヤーコン粉抽出液におけるオリゴ糖（DP2-DP10）・多糖類（DP11-DP24）の重合度別割合を求めたところ、図4に示すように各サンプルで重合度の割合が異なりました。ヤーコン粉抽出液には、DP6以上の重合度の大きなオリゴ糖がオリゴ糖シロップよりも多い割合で含まれていることがわかりました。

■まとめ

シングル四重極LC-MSを用いた植物由来のオリゴ糖・多糖類プロファイリングをご紹介しました。小型のシングル四重極LC-MSでも質量範囲が広いLCMS-2050を用いることで、重合度の大きなオリゴ糖・多糖類を網羅的に分析でき、重合度別のプロファイリングが可能となります。本法が広まることで、食品分野における技術・製品開発のますますの発展が期待されます。

■オリゴ糖 (DP2-DP10)



■多糖類 (DP11-DP24)

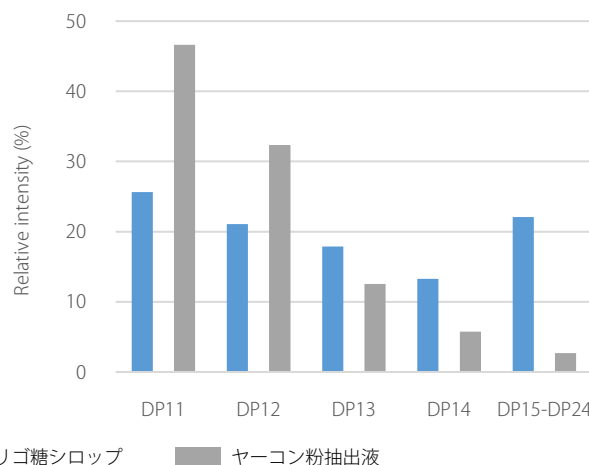


図4 オリゴ糖・多糖類の重合度別割合

LCMS、NexeraおよびDUIS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

01-00427-JP 初版発行：2022年 7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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022

▶ 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。



▶ LCMS-2050
シングル四重極質量分析計

関連分野

▶ 食品・飲料

▶ ライフサイエンス

▶ 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