

Application News

No. C195

LC-MS

フードメタボロミクス LC/MS/MS を用いた日本酒の分類評価

近年、生体中の代謝物を網羅的に解析するメタボロミクスという技術に注目が集まっています。このメタボロミクスを食品に応用したものが「フードメタボロミクス」と呼ばれています。これまで食品を評価する際は、人による官能試験により味、香り、おいしさ、等級などが評価されてきました。フードメタボロミクスは、食品中の代謝物を網羅的に分析し、その結果と人による官能試験等の結果の関係を解析することで、機器分析により科学的に、食品の「品質の評価・予測」や「機能性成分の探索」を行うというものです。

本稿ではフードメタボロミクスの一例として、分類別の日本酒サンプルに含まれる親水性成分を対象に、高速液体クロマトグラフ質量分析計 (LC/MS/MS) によりそれらを網羅的に分析し、それぞれの日本酒にどういった特徴があるのか検証した事例を紹介いたします。

T. Hattori, Y. Inohana

■ サンプルおよび前処理

同じ製造メーカーの日本酒 5 種類を入手し、遠心分離で得られた上清を限外ろ過したものを LC/MS/MS の分析サンプルとしました。原材料の水や米は基本的に同じものが使われており、製法による違いが端的に見出せるものと期待されます。日本酒 (特定名称酒) の主な分類を表 1 に、サンプルの詳細を表 2 に示しました。なお表 2 中の「おりがらみ」とは、醪 (もろみ) を絞った後貯蔵タンクで保存する間に、沈殿する細かいお米や酵母のような小さな固形物である「おり」を取り除いていないものを指します。

表 1 日本酒 (特定名称酒) の分類

| 特定名称 | 使用原料 | 精米歩合 | 麴米使用割合 | 香味などの要件 |
|--------|----------------|--------------------|--------|-----------------------|
| 吟醸酒 | 米、米こうじ、醸造アルコール | 60%以下 | 15%以上 | 吟醸造り 固有の香味、色沢が良好 |
| 大吟醸酒 | 米、米こうじ、醸造アルコール | 50%以下 | 15%以上 | 吟醸造り 固有の香味、色沢が特に良好 |
| 純米酒 | 米、米こうじ | - | 15%以上 | 香味、色沢が良好 |
| 純米吟醸酒 | 米、米こうじ | 60%以下 | 15%以上 | 吟醸造り 固有の香味、色沢が良好 |
| 純米大吟醸酒 | 米、米こうじ | 50%以下 | 15%以上 | 吟醸造り 固有の香味、色沢が特に良好 |
| 特別純米酒 | 米、米こうじ | 60%以下 又は特別な製造方法 | 15%以上 | 香味、色沢が特に良好 |
| 本醸造酒 | 米、米こうじ、醸造アルコール | 70%以下 | 15%以上 | 香味、色沢が良好 |
| 特別本醸造酒 | 米、米こうじ、醸造アルコール | 60%以下 又は特別な製造方法 | 15%以上 | 香味、色沢が特に良好 |

* 日本酒造組合中央会ホームページより引用

表 2 サンプルの詳細

| サンプル | |
|------|----------------|
| ① | 純米大吟醸酒 |
| ② | 純米大吟醸酒 (おりがらみ) |
| ③ | 純米酒 |
| ④ | 純米酒 (おりがらみ) |
| ⑤ | 純米酒 (③とは酵母違い) |

■ 分析条件

一次代謝物 LC/MS/MS メソッドパッケージ Ver. 2 に含まれるイオンペアフリーLC/MS/MS 法を用い、LCMS™-8060 を使用して行いました。本分析法では、ライフサイエンス分野のメタボローム解析において重要となるアミノ酸、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 3 に HPLC および MS の分析条件を示しました。

表 3 分析条件

| | |
|--------------------------------|---|
| [HPLC conditions] (Nexera™ X2) | |
| Column | : Reversed-phase column |
| Mobile phases | : A) 0.1 % Formic acid in water B) 0.1 % Formic acid in acetonitrile |
| Mode | : Gradient elution |
| Flow rate | : 0.25 mL/min |
| Injection volume | : 3 µL |
| [MS conditions] (LCMS-8060) | |
| Ionization | : ESI (Positive and negative mode) |
| Mode | : MRM |
| 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 |

■ メタボローム解析

各日本酒サンプルを LC/MS/MS で測定し、内部標準物質に対する各成分の面積比を用いて、主成分分析 (Principal Component Analysis) を SIMCA™ソフトウェアによって行いました。図 1 にスコアプロットを示しました。純米大吟醸酒と純米酒の間に差異があること、酵母の違いによってもプロットが分かれることなどが確認されました。図 2 に第一主成分の違いを示すローディングプロットを示しました。純米酒には、グルタミン酸、ロイシン、トレオニン、イソロイシン、セリンといったアミノ酸が多く含まれる傾向が見られました。一方で純米大吟醸酒にはリンゴ酸、ピルビン酸等の有機酸が多く含まれる傾向が確認されました。

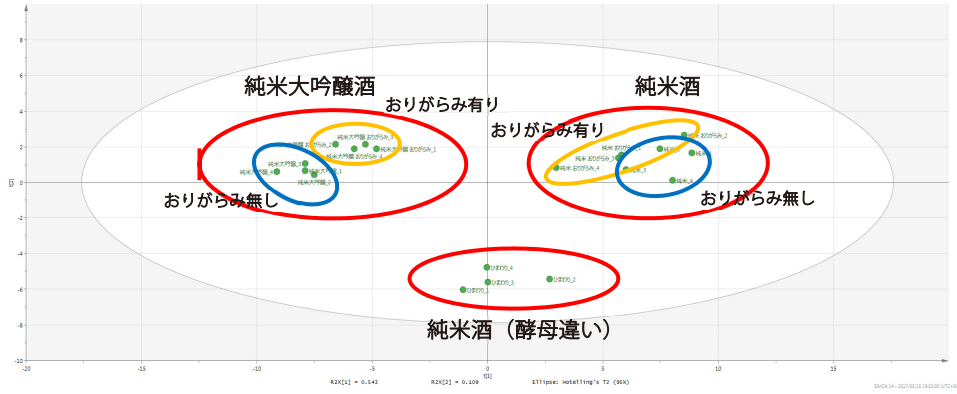


図1 分類別日本酒の主成分分析結果 スコアプロット

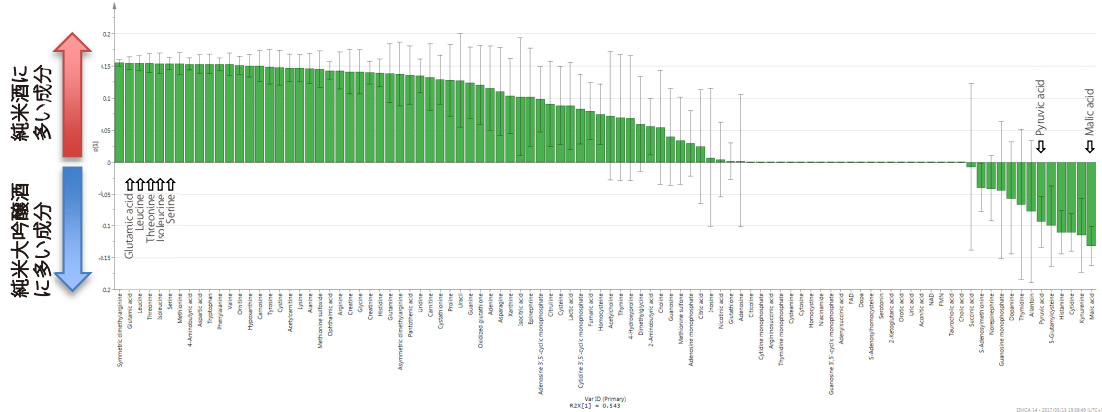


図2 純米大吟醸酒と純米酒の比較 ローディングプロット (第一主成分)

アミノ酸類に関して、純米酒に多く純米大吟醸酒に少ない傾向が確認されましたが、これは一般的に良く知られていることで、精米歩合が影響しています。今回分析した純米大吟醸の精米歩合は45%ですが、一方の純米酒は60%です。純米大吟醸酒においてアミノ酸が少ないのは、米を高度に精白することによって米の表面に多く含まれるたんぱく質を取り除いていることに起因します。一般的に食品や飲料においてアミノ酸が足りないと淡泊に感じ、多すぎるとどいような味がするとされます。官能試験との関連付けはできていませんが、得られた結果から、純米大吟醸にはアミノ酸類が少なく、またリンゴ酸等の有機酸類が多く含まれるため、純米酒と比べすっきりと爽やかな口当たりであると予測できます。また結果は図示してい

ませんが、純米大吟醸酒においておりがらみの有無を比較したところ、おりがらみ有りの方がアミノ酸類が多く含まれる傾向が確認されました。透明のものよりも米や酵母由来のうま味を感じやすいと考えることができます。

一方第二主成分では使用した酵母の違いが表現されました。図3に第二主成分のローディングプロットを示しました。酵母違いの純米酒には、グルタチオン、クエン酸、乳酸等が多く含まれる傾向が確認されました。グルタチオンはアルコール性脂肪肝を防ぐ働きがあるとされている抗酸化物質の1つです。メタボロミクスアプローチにより、おいしさに影響する成分や機能性成分の含有量などから他の製品との差別化を科学的に説明することも可能になります。

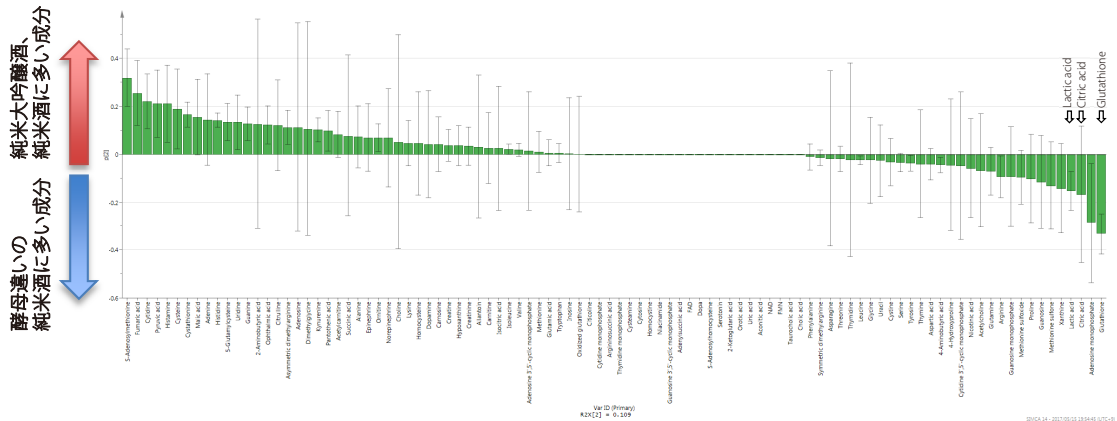


図3 酵母違いによる比較 ローディングプロット (第二主成分)

LCMS および Nexera 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

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。