

Application News

ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-QP™2020 NX、GCMS-TQ™8040 NX
高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-8060NX, LCMS™-9050

GC-MSとLC-MSを用いた香気・代謝成分の解析とクラフトビール開発へのアプローチ

中筋 悠斗、野村 文子、飯田 哲生、石本 実里、斎藤 良弘、武守 佑典

ユーザーベネフィット

- ◆ Smart Aroma Database™・Smart Metabolites Database™ver.2によって、香気成分・代謝成分の網羅分析が可能です。
- ◆ マルチオミクス解析パッケージにより、GC-MS、LC-MSで得られたメタボロームデータを効率良く解析できます。
- ◆ LC-QTOFにより未知成分の帰属解析が可能です。

■はじめに

クラフトビールは小規模スケールにて醸造されるビールで世界的に愛飲されています。醸造所によって麦芽やホップなどの材料、ビール酵母や醸造方法にこだわりがあり、個性溢れる香り・呈味を楽しむことができます。ビールの風味の評価は、品質管理や製品開発などに必須であり、その方法は多岐にわたります。近年、人による官能評価の代わりに、分析機器を用いて食品中の香気成分と代謝成分を網羅的に測定し、客観的に風味・機能性を評価する手法が注目を集めています。

本稿では、ガスクロマトグラフ質量分析計（GC-MS）と液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）によりビールを測定しました。まずGC-MSにより香気成分を解析しました。次にGC-MSとLC-MSそれぞれによるターゲットメタボロミクスにより、共通サンプル中の代謝成分を相補的に解析しました。最後に、四重極飛行時間型液体クロマトグラフ質量分析計（LC-QTOF）にて、サンプル中の未知代謝物を精密質量により帰属しました（ノンターゲットメタボロミクス）。GC-MSとLC-MSで検出可能な化合物が異なり、両手法を用いることでデータを補完できます。得られたデータから、クラフトビール開発へのフィードバックを試みました。

■分析サンプル

アメリカンエール系統酵母、ロンドンエール系統酵母を使用した商用酵母の他、自然から採取した2種類の野生酵母を特徴とするビールを試験醸造しました（図1）。この際、原料と醸造条件は揃えました。図2に、香気成分と代謝成分の分析に使用した装置の外観を示します。酵母の異なる計4点のビールサンプルを分析に供しました。

- ① 野生酵母1
- ② 野生酵母2
- ③ ロンドンエール系統酵母（商用酵母）
- ④ アメリカンエール系統酵母（商用酵母）

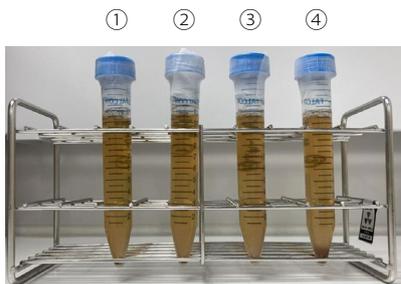


図1 試験醸造に用いた酵母とビールサンプル

・香気成分分析



HS-20 NX + GCMS-QP™2020 NX
シングル四重極ガスクロマトグラフ質量分析計

・代謝成分分析（ターゲットメタボロミクス）



GCMS-TQ™8040 NX
トリプル四重極ガスクロマトグラフ質量分析計



Nexera™ X3 + LCMS™-8060NX
トリプル四重極液体クロマトグラフ質量分析計

・代謝成分分析（ノンターゲットメタボロミクス）



Nexera™ X3 + LCMS™-9050
四重極飛行時間型液体クロマトグラフ質量分析計

図2 使用装置

■ Smart Aroma Databaseによる香気成分分析

「におい」は食品や飲料の開発において製品価値を決定付ける重要な要素の一つです。製品のにおいを適切に制御するためには、香気成分の分析が必要です。しかし、人間が感じるにおいは多種多様な成分の複合体であるため、単純な成分分析だけではなく、実際のにおいに大きく寄与する成分の特定が必要です。

Smart Aroma Databaseは、香気成分とにおいの関連性を検討するプロセスを幅広くサポートします。Scan分析と独自の香気成分ライブラリを使用することで、約500種類の香気成分を高精度にスクリーニングすることができます。さらに、SIMやMRMモードに対応しているため、多変量解析により絞り込んだ成分や既知の重要成分をターゲットとした詳細分析を容易に行うことが可能です。また、におい嗅ぎに対応したメソッドも含まれるため、成分とにおいの関連性の評価などへの応用が可能です。

このようにして得られた結果は、試作品の改良だけでなく、製品化後のプロモーションやブランディングへの活用も期待できます（図3）。

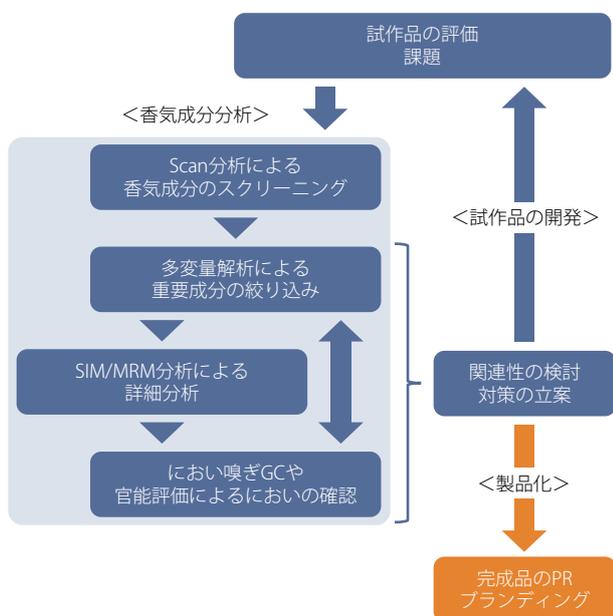


図3 Smart Aroma Databaseを用いたワークフローの例

■ サンプルおよび分析条件（香気成分分析）

香気成分分析にはシングル四重極型GC-MSのGCMS-QP2020 NXとHS-20 NXを接続したシステム（図4）を使用し、トラップモードによって分析を行いました。

サンプルには異なる酵母を用いて試験醸造されたビール4種類を使用しました。各ビール5gとNaCl3gを20mLのクリンバイアルに封入し、HS-20 NXにセットして分析を実施しました。各サンプルは3回連続して測定しました。

HS-20 NXのトラップモードでは、ビールのヘッドスペースガスをトラップ管に濃縮し、GCに導入するプロセスが自動で行われます（図5）。そのため、複雑な前処理を省略し、バイアルにサンプルを封入するのみの操作で香気成分の高感度分析を行うことが可能です。分析条件の詳細は表1に示しました。



図4 HS-20 NX + GCMS-QP™2020 NX

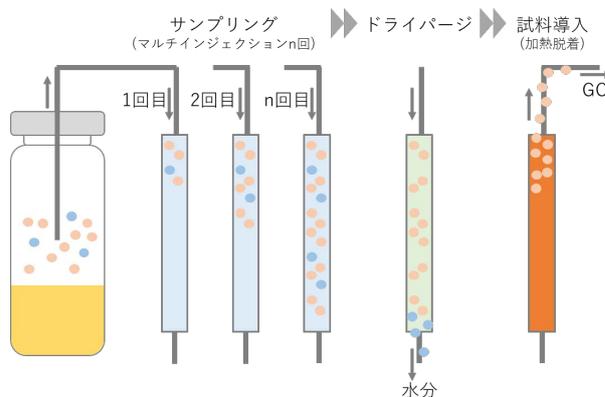


図5 Trapモードによるヘッドスペースサンプリング

表1 装置構成および分析条件

<GC-MS>	: GCMS-QP2020 NX		
<Head Space Sampler>	: HS-20 NX		
<HS>			
Mode	: Trap (Tenax TA)	<GC>	
Oven Temp.	: 60 °C	Injection Mode	: Split
Sample Line Temp.	: 100 °C	Split Ratio	: 5
Transfer Line Temp.	: 100 °C	Carrier Gas	: He
Trap Cooling Temp.	: -10 °C	Carrier Gas Control	: Const. Pressure (83.5 kPa)
Trap Heating Temp.	: 280 °C	Column	: InertCap Pure-WAX (30 m, 0.25 mm i.d., df = 0.25 μm)
Trap Waiting Temp.	: 25 °C	Oven Program	: 50 °C (5 min) → 10 °C/min → 250 °C (10 min)
Multi Injection	: 5	<MS>	
Vial Pressure	: 80 kPa	Ion Source Temp.	: 200 °C
Dry Purge Pressure	: 60 kPa	Interface Temp.	: 250 °C
Vial Heating Time	: 30 min	Data Acquisition Mode	: Scan (m/z 35 - 400)
Vial Pressurization Time	: 1 min	Event Time	: 0.3 sec
Pressure Equilibrating Time	: 0.1 min		
Loading Time	: 1 min		
Load Equilibrating Time	: 0.1 min		
Dry Purge Time	: 10 min		
Injection Time	: 3 min		
Needle Flush Time	: 5 min		

■ GC-MSによる香気成分の分析

異なる酵母を用いて試験醸造された4種類のビールの香気成分を、Smart Aroma Databaseを使用して分析しました。分析はScanモードで行い、定性の結果、4種類のビールサンプルから100成分が同定されました。

続いて、各サンプル間の差および特徴的な成分を視覚化するため、同定成分の面積値を用いて主成分分析を行いました。解析にはSIMCA 18 (インフォコム社) を使用しました。主成分分析の結果を図6に示します。

スコアプロット図6-a上では4種類のサンプルが第一および第二主成分軸によって分割され、4つのクラスターに分けられました。特に、第一主成分上では、商用酵母2種が正の方向に、野生酵母2種が負の方向にプロットされました。これは、商用酵母と野生酵母でビールに含まれる香気成分の傾向が大きく異なり、フレーバーに特徴的な差が生じていることを示唆しています。

また、各サンプルに相対的に多く含まれる成分をローディングプロットから確認しました。図6-bには、各酵母による特徴が見られる成分の例を示しました。

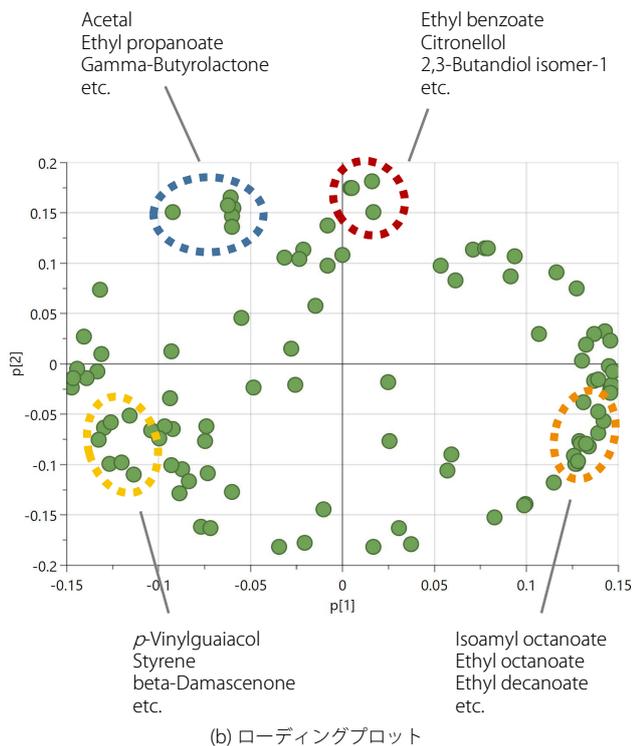
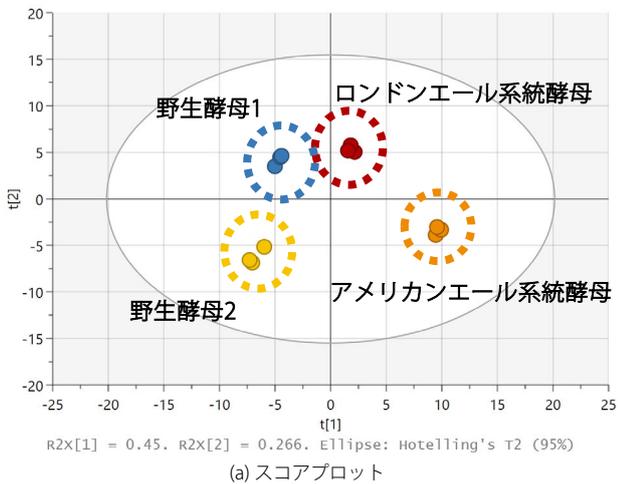


図6 検出された香気成分の主成分分析結果

本分析では、野生酵母2から *p*-Vinylguaiacol (4-Vinylguaiacol)、Styrene、beta-Damascenoneといった成分が特に多く検出されるという傾向が見られました。例として、これらの成分のマスクロマトグラムの比較を図7に示しました。野生酵母2のピークが他のサンプルと比較して特に大きく検出されており、主成分分析の結果から野生酵母2に特徴的な成分を特定できたことが確認されました。

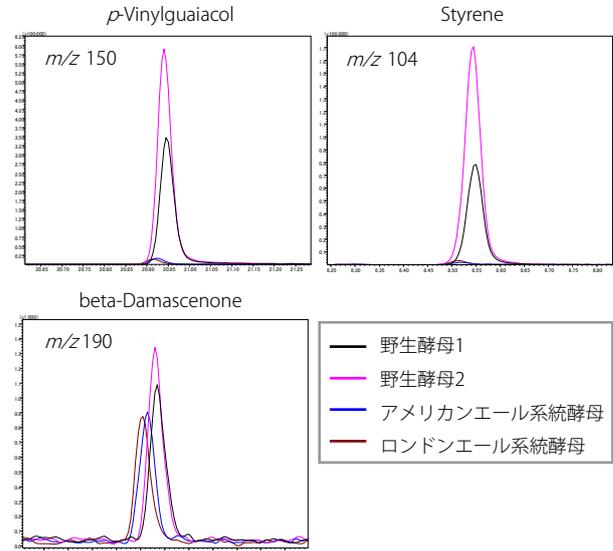


図7 野生酵母2に特徴的な成分のマスクロマトグラム比較

さらに、野生酵母2を使用したビールの人による官能評価では、スパイシーな香気を確認されました。主成分分析によって、特徴的な成分として抽出された *p*-Vinylguaiacol は clove や curry のようなスパイシーな香気を持つ物質として知られており、今回の分析結果から、野生酵母2を使用したビールを特徴づける香気成分として同定されました。

Smart Aroma Databaseでは、分析情報だけでなく、官能情報も登録されているため、解析画面上で化合物の保持時間や面積といった化合物情報と官能情報を同時に確認することが可能です (図8)。このように、Smart Aroma Databaseは、においの分析から分析結果の解釈までのワークフロー全体にわたって広くサポートします。

化合物情報		官能情報	
化合物名	保持時間	面積	コメント
Styrene	8.654	415400.00	balsamic, gasoline
beta-Damascenone	17.094	2854.00	stewed apple, honey-like, ...
<i>p</i> -Vinylguaiacol	20.995	1395077.00	clove, curry

図8 Smart Aroma Databaseの解析例

■ GC-MSによる香気成分の分析まとめ

ここでは、酵母の異なる4種類のビールサンプルに対して、Smart Aroma Databaseを使用した香気成分のワイドターゲット分析を行い、得られた多変量データの特徴を主成分分析により解析しました。

本分析において、主成分分析は、異なる酵母によって試験醸造されたビールの香気成分を比較し、各ビールがどのような香りの特徴を持つのかを確認するために使用しました。その結果、各ビール間の違いが明確になり、酵母の種類がビールの香りにどのような影響を与えるかを確認することができました。このように、香気成分分析を行うことによって、酵母の種類がビールの香りに与える影響を理解し、その特性を活用したビール醸造への応用が期待されます。

■ GC-MS・LC-MSによる代謝成分のターゲットメタボロミクス

メタボロミクスとは生体中の代謝物（メタボローム）を網羅的に測定する技術です。メタボロミクスは様々な分野で利用されており、食品分野では品質管理、製造・保管工程の確認、機能性成分の探索などに活用されています。

分析には、ターゲットメタボロミクスに最適なトリプル四重極質量分析計を使用しました。マルチオミクス解析パッケージ¹⁾を用いたデータ解析手法についてご紹介します（図9）。共通サンプルに対しGC-MSでは「Smart Metabolites Database」を、LC-MSでは「メソッドパッケージ一次代謝物 Ver.3」を用いてデータ取得しました。GC-MSでは、対象成分が多いのが特長ですが、TMS誘導体化が必要となり前処理が煩雑です。一方LC-MSは、検出可能な成分がGC-MSと比較して少ないですが、LC-MSでしか測定できない成分もあり、更に前処理が非常に簡便です。それぞれから得られた結果をマルチオミクス解析パッケージの多変量解析（EasyStatsやVolcano Plot Generator）を用いて差異解析しました。さらに双方のデータを統合して代謝マップ上に結果を可視化することも可能です。代謝マップに関しては別途アプリケーションニュース²⁾を参照ください。

- ビール
- ① 野生酵母1
 - ② 野生酵母2
 - ③ ロンドンエール系統酵母（商用酵母）
 - ④ アメリカンエール系統酵母（商用酵母）

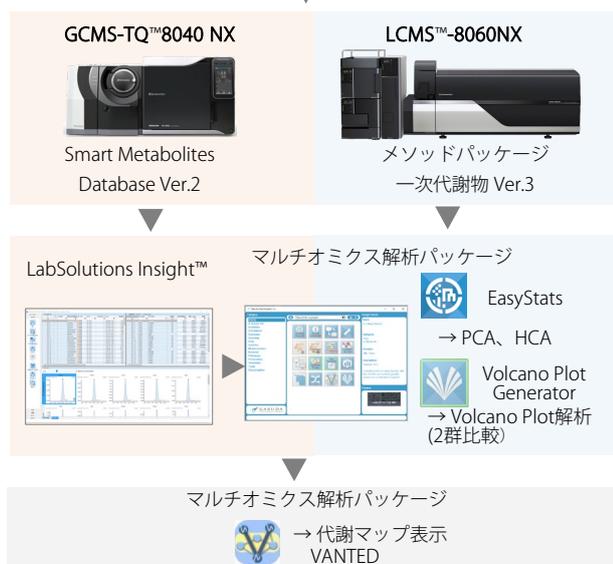


図9 代謝物解析のワークフロー

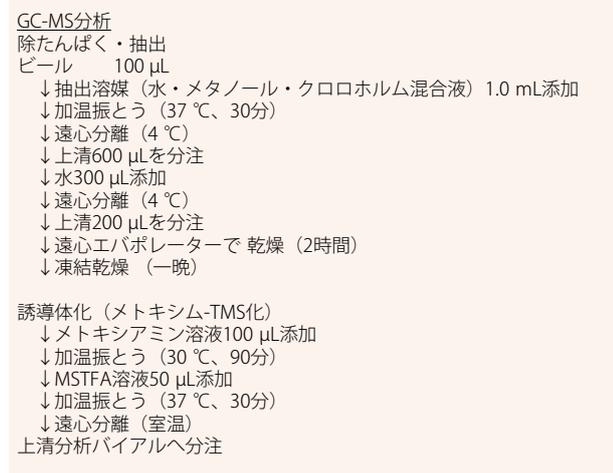


図10 GC-MS前処理ワークフロー

■ サンプルおよび前処理

GC-MS用の前処理は図10に示します。抽出溶媒を用いて抽出および除たんぱく処理を行った後、一度乾固しました。その後、メトキシム-TMS処理を行い上清を分析に供しました。LC-MS用の前処理では、誘導体化は不要です（図11）。限外ろ過膜を用いて除たんぱくした後、分析に供しました。Citric acid、Citrulline、Guanosine、Hypoxanthine、Phenylalanineについては、高濃度に含まれていたため、ろ液をさらに水にて100倍に希釈して分析した結果を解析に用いました。代表的な前処理法につきましては、メタボロミクス前処理ハンドブック³⁾をご参照ください。

LC-MS分析

- 除たんぱく
- ↓遠心分離遠心式限外ろ過フィルター
- ・分析バイアルへ分注（一部分析用に水にて希釈した溶液も調製）

図11 LC-MS前処理ワークフロー

■ 分析条件（代謝成分解析）

表2および表3に使用したシステムおよび分析条件を示します。

表2 GC-MS分析条件（Smart Metabolites Database Ver.2）

GC-MS	: GCMS-TQ8040 NX
Auto-injector	: AOC20i+s Plus
GC	
Column	: DB-5 (30 m, 0.25 mm I.D., 1.00 µm)
Injection temp.	: 280°C
Column oven	: 100°C (4 min) → 4°C/min → 320°C (8 min)
Injection mode	: Splitless
Sampling time	: 1 min
Carrier gas	: He
Carrier gas control	: Linear Velocity (39.0 cm/sec)
Injection volume	: 1 µL
MS	
Mode	: MRM
Ion source temp.	: 200°C
Interface temp.	: 280°C

表3 LC-MS分析条件（メソッドパッケージ 一次代謝物 Ver.3）

HPLC	: Nexera X3
Column	: Reversed-phase column
Column oven	: 40°C
Solvent A	: 0.1% Formic acid in water
Solvent B	: 0.1% Formic acid in acetonitrile
Mode	: Gradient elution
Flow rate	: 0.25 mL/min
Injection volume	: 3 µL
MS	: LCMS-8060NX
Ionization	: ESI positive/ negative (IonFocus™)
Mode	: MRM
Nebulizing gas	: 3.0 L/min
Drying gas	: 10.0 L/min
Heating gas	: 10.0 L/min
DL temp.	: 250°C
Heat block temp.	: 400°C
Interface temp.	: 270°C

■ GC-MSによる代謝成分の分析結果

GC-MSによって4サンプル中の代謝成分を分析した結果、235成分が同定されました。得られた面積値は内部標準物質によって補正し、その面積比を主成分分析に使用しました。主成分分析の結果を図12に記載します。スコアプロット(図12-a)上では、4種類のサンプルが4つのクラスターに分けられました。ここで、香気成分分析と同様に、第一主成分上では商用酵母2種が正の方向に、野生酵母2種が負の方向にプロットされました。これにより、代謝成分についても、商用酵母と野生酵母の間で傾向が大きく異なることが確認されました。

また、各サンプルに相対的に多く含まれる成分をローディングプロットから確認しました。図12-bには、各酵母による特徴が見られる成分の例を示しました。

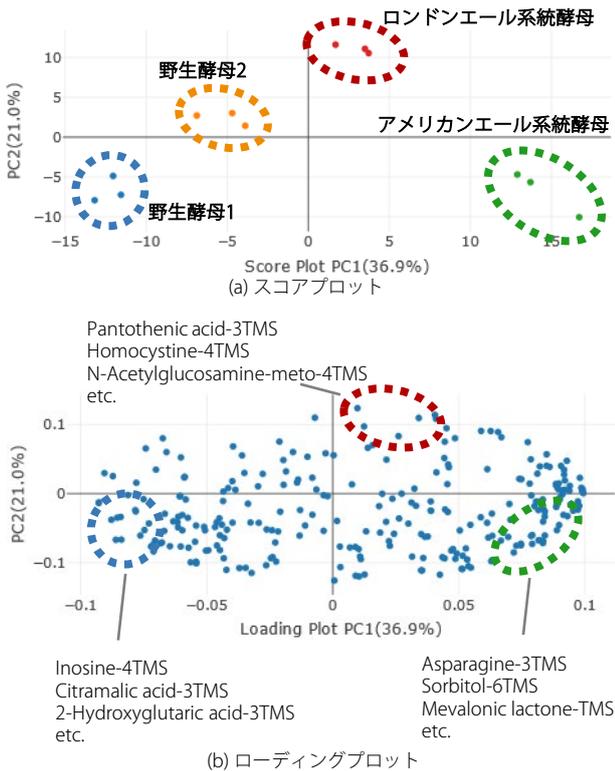


図12 GC-MSによって検出された代謝成分の主成分分析結果

主成分分析によって、各ビールが分類されましたが、野生酵母2のように、スコアプロット上で中心付近にプロットされるようなサンプルは、ローディングプロット上から特徴的な成分を確認することが難しい場合があります。

そこで、野生酵母2に特徴的な成分を確認するため、野生酵母2をグループ1とし、他の3種類をグループ2とする2群として捉え、これら2群の差に寄与する成分をボルケーノプロットによって可視化しました(図13)。

その結果、野生酵母2で醸造されたビールでは、LactitolやMaltose等が多く含まれる一方で、IsoleucineやValineなどの一部のアミノ酸などの成分が特徴的に少ないという傾向を捉えることができました。

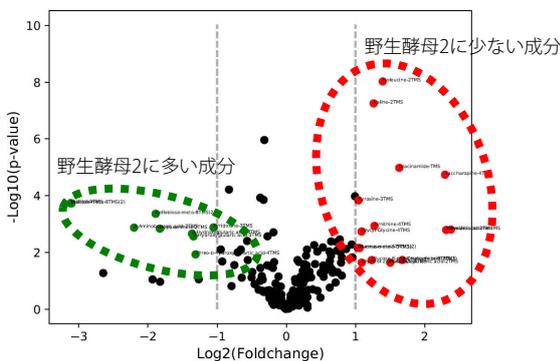


図13 ボルケーノプロット (GC-MS、野生酵母2 vs その他)

■ LC-MSによる代謝成分の分析結果

LC-MSにより4サンプルを分析しました。一次代謝物メソッドパッケージVer.3では、2種類の条件を提供しています。今回使用した条件(表3)では、143成分のターゲット分析が可能です。そのうち104成分をピーク検出し、得られた面積値を多変量解析に用いました。主成分分析の結果を図14に記載します。図14-aの第一主成分上では野生酵母1および2のビールが負方向に、ロンドンエール系統酵母、アメリカンエール系統酵母が正方向にプロットされ、更に第二主成分上でロンドンエール系統とアメリカンエール系統は正負に分かれてプロットされました。

図14-bにローディングプロットを示します。野生酵母サンプルではInosine、Hypoxanthine、Adenineなどが特徴的であることがわかりました。一方、商用酵母サンプル全体的にアミノ酸が多く含まれていましたが、ロンドンエール系統では、Adenosine monophosphate、Glutathione、Histidinolが、アメリカンエール系統では、Citrulline、Glycolic acid、Glycineなどが多く含まれていることがわかりました。

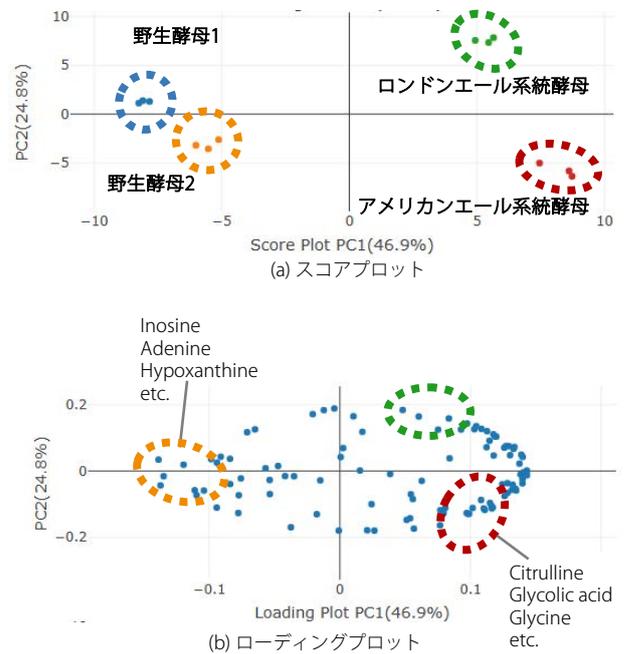


図14 LC-MSによって検出された代謝成分の主成分分析結果

図14の主成分分析では、野生酵母同士が近くにプロットされローディングプロットにおいてもそれらの特徴がみえにくい結果でした。そこで、LC-MS分析の結果を用いたボルケーノプロットでは、野生酵母2をグループ1とし野生酵母1をグループ2とした野生酵母同士を比較しました。解析結果を図15に示します。野生酵母2では、Proline、2-Aminobutyric acidなどが多く、Symmetric dimethylarginineなどが少ない傾向がわかりました。

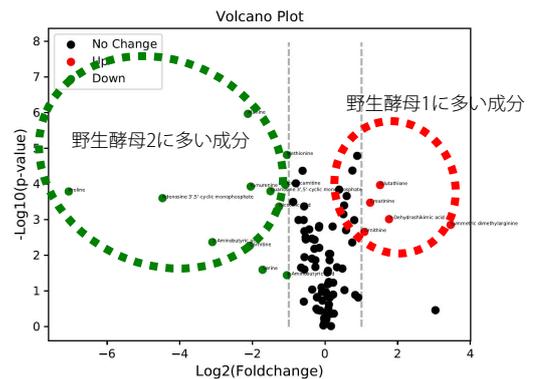


図15 ボルケーノプロット (LC-MS、野生酵母2 vs 野生酵母1)

■ GC-MS・LC-MSによる代謝成分のターゲットメタボロミクスまとめ

GC-MSおよびLC-MSによる代謝成分分析の結果、GC-MSではアミノ酸や有機酸、糖などを中心に235成分、LC-MSではアミノ酸やビタミン、核酸塩基などを中心に104成分が同定され、重複した成分を除くと合計278成分の代謝物が同定されました（図16）。

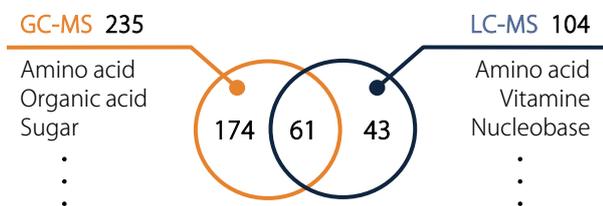


図16 GC-MSとLC-MSにより検出された代謝物数

それぞれの装置によって検出された成分に対して多変量解析を行った結果、4種類のビールに特徴的な代謝成分を確認することができました。主成分分析の結果からは、GC-MSとLC-MSデータに共通して第一主成分上で野生酵母と商用酵母が分離され、大きく特徴が異なりました。例として、両装置の結果から野生酵母由来ビールにはinosineが多く含まれる傾向にあり、装置間の結果の整合性を確認することができました。

一方で、野生酵母に特徴的な Citramalic acid や 2-Hydroxyglutaric acid はGC-MSのみから検出され、ロンドンエール系統酵母に特徴的な Adenosine monophosphate や Glutathione はLC-MSでのみ検出されました。これらように、各ビールに特徴的な成分の中には、一方の装置でのみ検出されるものが多数確認されました。分析手法によって検出しやすい成分は異なるため、GC-MSとLC-MSの両方で分析することで、より網羅的に酵母による特性の違いを確認できたと考えられます。

野生酵母2については、GC-MS分析より Isoleucine や Valine といった酵母が発酵過程において栄養源として消費するアミノ酸類が特徴的に少ない傾向が確認されました（図17）。この結果から、発酵過程において酵母がこれらのアミノ酸類を活発に消費するという仮説が得られました。また、発酵を促進するために「酵母が必要とする栄養素を含む原料の割合を増やす」といった醸造へのアプローチが考えられました。

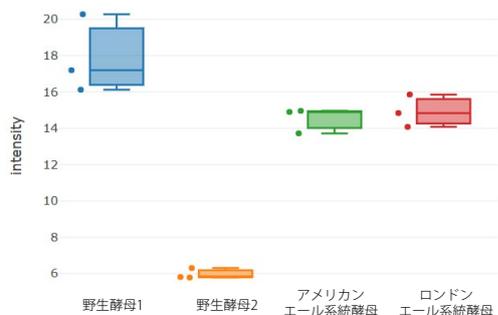


図17 GC-MSによって検出されたIsoleucineのボックスプロット

■ LC-QTOFによる代謝成分のノンターゲットメタボロミクス

ターゲットメタボロミクスは、決められた化合物群のみを測定する方法で解析は容易になりますが、ターゲット以外の有効成分を見逃す恐れがあります。一方、ノンターゲットメタボロミクスでは未知成分も含めて網羅的に代謝物を解析します。精密質量を取得可能な四重極飛行時間型（QTOF）質量分析計はノンターゲット解析に適しており、サンプル間で差異のあった未知化合物の推定が可能です。ここでは、異なる酵母の4種ビールのデータセットに対して、差異解析にReifycs社のSignpost MSを用いました。Signpost MSは、取得したデータから検出されたイオン情報をSpotとして抽出し、保持時間と m/z を基にアライメントを行います。アライメントされたピークを用いて多変量解析を行うことで、各サンプルに特徴的なピークを簡単に抽出可能です。また未知成分の帰属解析は、当社のQTOF用定性解析ソフトウェアLabSolutions Insight Explore™が有用です（図18）。

- ビール
- ① 野生酵母1
 - ② 野生酵母2
 - ③ ロンドンエール系統酵母（商用酵母）
 - ④ アメリカンエール系統酵母（商用酵母）

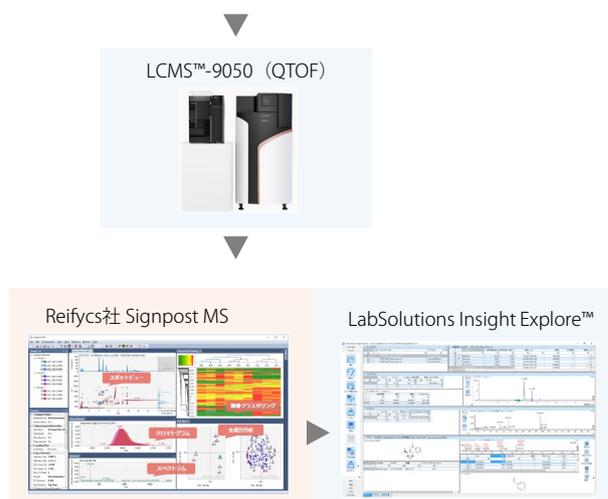


図18 ノンターゲットメタボロミクスのワークフロー

表4 分析条件

HPLC	: Nexera X3
Column	: Reversed-phase column
Column oven	: 40°C
Solvent A	: 0.1% Formic acid in water
Solvent B	: 0.1% Formic acid in acetonitrile
Mode	: Gradient elution
Flow rate	: 0.25 mL/min
Injection volume	: 3 µL
MS	: LCMS-9050
Ionization	: ESI negative
Mode	: Data Dependent Acquisition (DDA)
TOF-MS	: MS m/z 50-800
	: MS/MS m/z 10-800
Nebulizing gas	: 3.0 L/min
Drying gas	: 10.0 L/min
Heating gas	: 10.0 L/min
DL temp.	: 250°C
Heat block temp.	: 400°C
Interface temp.	: 300°C

■ サンプルの前処理と分析条件

「LC-MSによる代謝成分のターゲットメタボロミクス」と同様に、サンプルを限外ろ過膜を用いて除たんぱくした後、分析に供しました。分析には、トリプル四重極液体クロマトグラフ質量分析計用「メソッドパッケージ 一次代謝物 Ver.3」に収録されているメソッドをLCMS-9050に適用し、応用しました。HPLC条件とMS条件を表4に示します。

■ ビール中代謝物の網羅的分析

LCMS-9050を用いて、4種ビールを3回ずつ分析しました。Signpost MSにより、4309個のピークが抽出されました。抽出されたピーク面積値で主成分分析を行った結果を図19に示します。データのスケールにはPareto scalingを用いました。ローディングプロットはPrincipal Component Variable Grouping(PCVG)により、色分けして表示されています。これにより、大量に得られたスポットが関連するもの同士でグルーピングされ、得られた主成分の解釈がしやすくなります。スコアプロット上では2種の野生酵母由来ビールと2種の商用酵母由来ビールがPC1軸上で分かれてグルーピングされました。ここでは、ローディングプロット上で商用酵母に特徴的に確認された未知成分Aの帰属解析例をご紹介します。

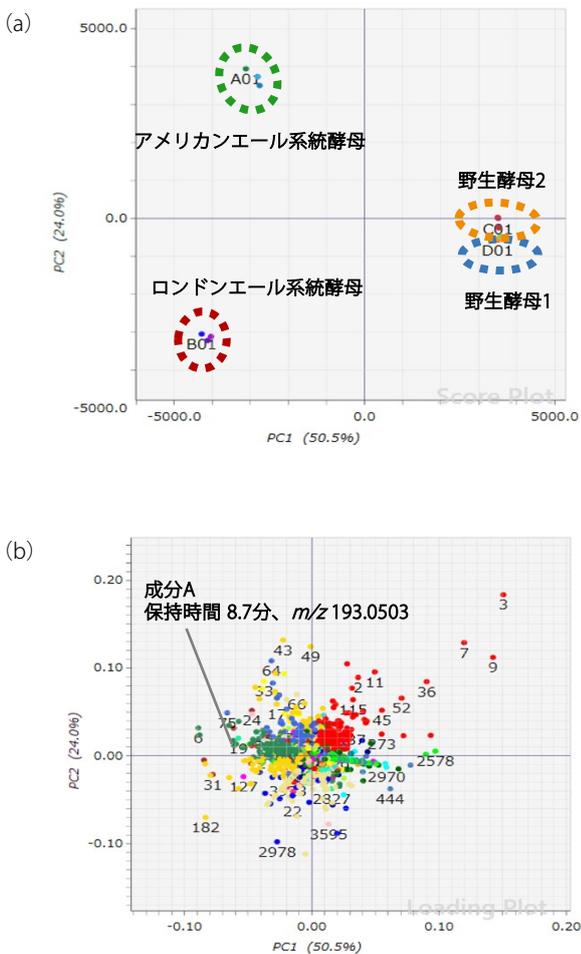
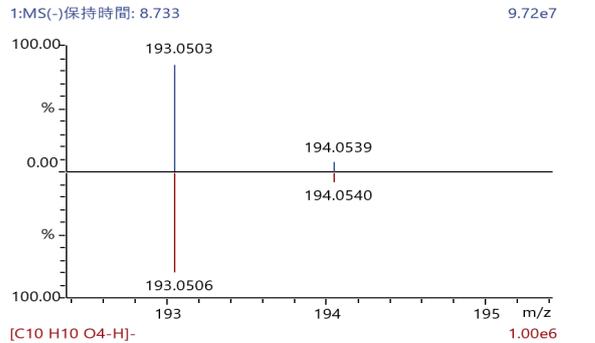


図19 Signpost MSでの主成分分析結果
(a) スコアプロット、(b) ローディングプロット

■ 組成推定

得られたマスペクトル情報を基に、定性解析ソフトウェアLabSolutions Insight Exploreを用いて組成推定を行いました。ここではアメリカン酵母系統酵母由来ビールのネガティブモード測定で検出された成分A（保持時間 8.7分、 m/z 193.0503）の組成推定結果を図20に示します。分子式候補として質量誤差 $\pm 1\text{mDa}$ 以内の高い質量精度にて、 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ が提示されました。



#	スコア	予測質量	予測m/z	測定m/z	差 (mDa)	分子式	イオン式	差 (ppm)	同位体スコア	DBE
1	97.29	194.05791	193.05063	193.05031	-0.32	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	[M-H] ⁻	-1.658	97.92	6.0

図20 成分Aの組成推定結果

上：測定マスペクトル（青/上段）と理論マスペクトル（赤/下段）の比較プロット
下：分子式候補

■ 化合物探索とフラグメント帰属

推定された分子式についてChemSpiderデータベースを用いたオンライン検索（アサイン機能）を行ったところ、最上位の候補化合物としてFerulic acidが提示されました（図21）。構造式から予測されるプロダクトイオンとMS/MSスペクトルに観察されるプロダクトイオンのマッチング結果（フラグメント帰属）を図22に示します。

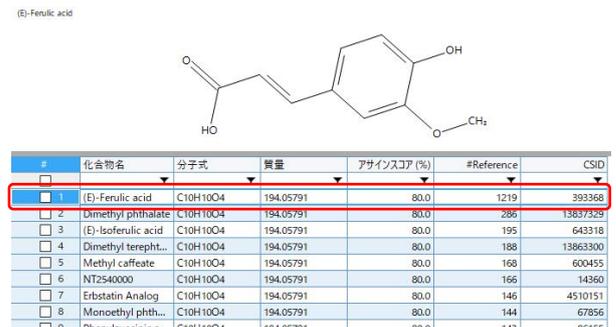


図21 分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{O}_4$ のオンライン（ChemSpider）検索結果

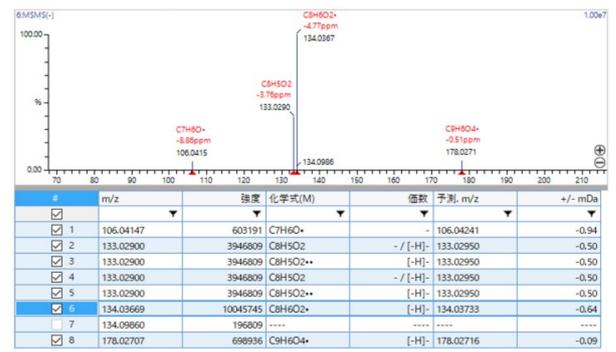


図22 成分Aのフラグメント自動帰属結果

■ 標準品による確認

図23にアメリカンエール系統酵母由来ビールサンプル中でFerulic acidと推定された成分AとFerulic acid標準品の抽出イオンクロマトグラム (m/z 193.0506) を比較しました。また、図24に両者のMS/MSスペクトルのパターンを比較しました。成分Aの保持時間とMS/MSスペクトルパターンは標準品と一致し、最終的にFerulic acidと帰属されました。

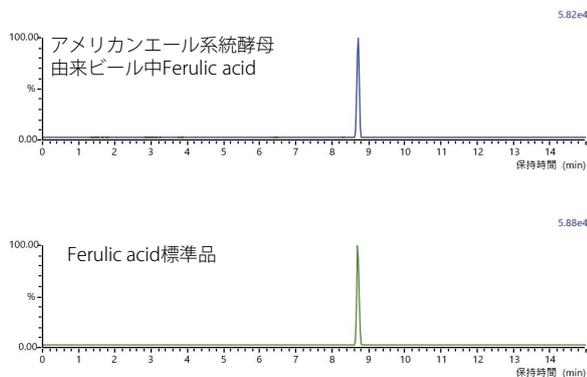


図23 Ferulic acidの抽出イオンクロマトグラム

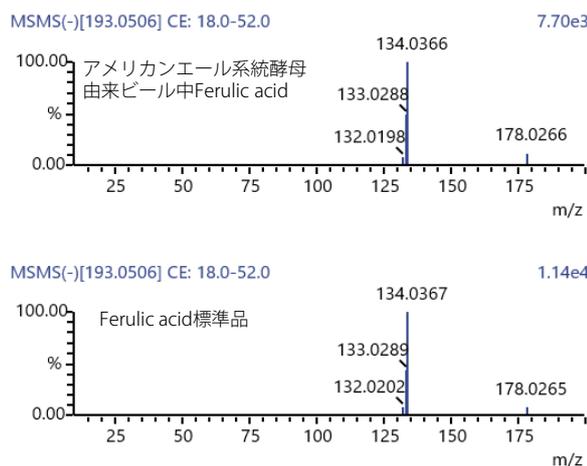


図24 Ferulic acidのMS/MSスペクトル

■ LC-QTOFによる代謝成分のノンターゲットメタボロミクスまとめ

酵母の異なる4種類のビールサンプルに対してQTOFを使用した精密質量分析を行い、得られた多変量データの特徴を主成分分析により解析しました。サンプル間で差異が得られた未知成分ピークに対して、組成推定、データベースを用いたオンライン検索やフラグメント帰属解析を実施することにより、候補化合物の情報が得られます。

本分析において、商用酵母由来ビールに多く野生酵母由来ビールに少ない成分としてFerulic acidが帰属されました。GC-MSの香り成分解析にて野生酵母由来ビールに特徴的なスパイシーな香り成分として同定された

Vinylguaiacolは、酵母の中でFerulic acidの脱炭酸により生成すると言われております。野生酵母がFerulic acidから

Vinylguaiacolを多く生成した結果が反映されたと考えられます。

GCMS-QP、GCMS-TQ、LCMS、Smart Aroma Database、Smart Metabolites Database、LabSolutions Insight、LabSolutions Insight Explore、NexeraおよびIonFocusは、株式会社島津製作所またはその関係会社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
<https://www.an.shimadzu.co.jp/>

01-00680-JP 初版発行：2024年 1月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

■ 総括

本稿では、2種の商用酵母と自然採取した2種の野生酵母由来ビールを試験醸造し、様々な装置を横断して比較解析しました。GC-MSを用いた香り成分解析では、野生酵母に特徴的なスパイシーな香り成分を同定できました。GC-MSとLC-MSを用いたターゲットメタボロミクスでは、各ビールサンプルに特徴的な代謝成分の情報を得て、醸造プロセスへのアプローチを考察しました。LC-QTOFを用いたノンターゲットメタボロミクスでは、精密質量データを網羅的に取得し、未知成分を帰属するワークフローを示しました。

■ コラボレーションビールへの展開

野生酵母2について、官能評価ではスパイシーな香りが感じられました。その香りの主成分が

Vinylguaiacolであることが分かりました。p-Vinylguaiacolの原料であるFerulic acidとの関連も確認されました。野生酵母2の試験サンプルでの、特定のアミノ酸濃度が少ないことに注目し、野生酵母2がアミノ酸を大量に消費するという仮説を立て、小麦とオーツ麦を原料に追加することで、発酵を安定させることに成功しました。さらに、野生酵母2の試験サンプルでは、麦芽由来のマルトースの残存量が多く、野生酵母2がマルトースを消費しにくいことも確認しました。通常、マルトース残留が多いとキレが悪くなるため、スクロースの加糖によりキレを改善しました。これにより、ISEKADOと共同でBelgian IPAのクラフトビール「香調」を開発しました(図25)。野生酵母2を使用して特徴的な香りを引き立てながら、ドライさとバランスを感じる味わいを生み出すことに成功しました。



図25 コラボレーションビール：香調 BREWED ON SCIENCE by ISEKADO and SHIMADZU Innovation!

■ 謝辞

本測定を行うにあたり、ご協力いただいたISEKADO 鈴木成宗社長、山宮拓馬氏、高崎廉氏、三重工業研究所 丸山裕慎主任研究員に感謝いたします。

<関連資料>

- 1) マルチオミクス解析パッケージ
<https://www.an.shimadzu.co.jp/products/liquid-chromatography-mass-spectrometry/lc-ms-software/multi-omics-analysis-package/index.html>
- 2) GC/MSとLC/MSを用いた肝臓モデルマウス血清中の代謝物分析
an_01-00630-jp.pdf (shimadzu.co.jp)
- 3) メタボロミクス前処理ハンドブック
https://www.an.shimadzu.co.jp/sites/an.shimadzu.co.jp/files/pim/pim_document_file/an_jp/brochures/20288/c146-2181.pdf

＞ 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。



＞ GCMS-QP™2020
NX
ガスクロマトグラフ質量分析計



＞ GCMS-TQ™8040
NX
トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計



＞ LCMS-8060NX
トリプル四重極質量分析計

関連分野

＞ 食品・飲料

＞ フードメタボロミクス

＞ におい分析

＞ 食品の栄養表示・機能性成分表示

＞ 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