




氏名・職名	久本 雅嗣 准教授	
キーワード	食品化学	
ホームページ	http://www.les.yamanashi.ac.jp/modules/kenkyu/index.php?content_id=22	
所属学会	日本農芸化学会、日本ブドウ・ワイン学会 American Society of Enology and Viticulture アメリカ化学会、日本食品科学工学会、日本栄養・食糧学会	
研究者から一言	食品(製品)の成分分析は特定の既知の化合物を定量分析する方法が主流です。しかしながら、製品に含まれる未知成分や想定外の成分が含まれるとき、またそれによる影響を総合的に捉えることは従来の方法では困難です。食品の品質やその評価に対する要求が高まる市場環境の中で、食品に含まれる成分による品質への影響や、製品間の差異や類似性を示している成分や要因を迅速に特定することが求められています。本研究では食品中の多くの成分を一度に網羅的に定性・定量分析し、その中から複数の試料群の差異や品質評価を行うツールとして、メタボローム解析を利用したUPLC-TOFMS(超高速液体クロマトグラフィ―飛行時間型質量分析装置)と多変量解析を組み合わせた食品の分析方法を提案します。	

メタボローム解析を利用したUPLC-TOFMSと多変量解析を組み合わせた食品の分析方法

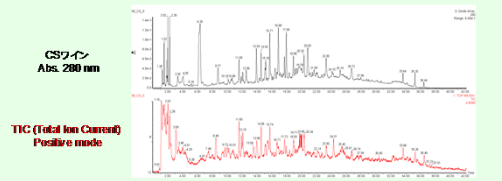
測定試料・条件

- 2000~2009年に山梨大学ワイン科学研究センターで製造したカベルネ・ソーヴィニヨン(CS)とマスカット・ペリー(A(MBA))のワインを使用
- UPLC-DAD-TOFMSによる測定はそれぞれのワインに内部標準としてgenisteinを2 mg/Lに加え、0.45 μmのPTFEフィルターで濾過し、2009年から1年毎に3年測定した

UPLC条件
 使用機器: ACQUITY UPLC® システム
 カラム: ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm, 2.1 × 100 mm, Waters)
 移動相: 0.1% HCOOH-CH₃CN gradient
 流速: 0.2 mL/min
 注入量: 5 μL
 カラム温度: 40°C
 DAD部: 200-600 nm

TOFMS条件
 使用機器: Waters Micromass LCT Premier™ XE
 イオン化: ESI Positive/Negative
 検出レンジ: m/z 100-2000
 キャピラリー電圧: 2800 V(POS), 2800 V(neg)
 コーン電圧: 60 V
 スキャンタイム: 0.2 sec
 リファレンス: Leucine Enkephalin 25 fmol/mL

ピーク抽出・全ピーク情報のテーブル化

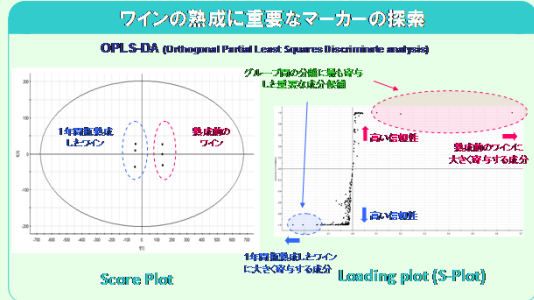


データ処理は MaxEnt 2.0™ XS
 統計処理は Markerlynx™ XS (ともに Waters) を使用

10分まで高速分離し、TOFMSから高速フルスキャンで超微量サンプルを一斉に検出。40分で全ワイン中の30,000以上の検出ピークの超微量質量と検出時間、並びに検出データをリスト化

OPLS-DAで検出した成分(アントシアニン・ピラアントシアニン)

No.	R [min]	Experimental m/z (MS1)***	Theoretical m/z (MS1)***	Experimental fragment ions m/z (MS2)***	Formula	Compound
1	15.01	625.1794	625.1969	301.0761 463.1274	C28H30O16	Pn-3,5-diglc
2	15.05	605.1879	605.1974	310.0871 493.1395	C28H30O17	Mv-3,5-diglc
3	18.90	603.1766	603.1849	310.0768	C28H30O14	Pn-3-glc
4	19.20	493.1378	493.1346	311.0853	C28H30O12	Mv-3-glc
5	20.80	531.1536	531.1539	303.0536	C28H30O13	A-type vitisin of Pn-3-glc
6	21.56	561.1255	561.1244	399.0777	C28H30O14	Vitisin A
7	22.98	603.2546	603.2550	399.0745	C28H30O15	A-type vitisin of Mv-3 (6-acetyl)-glc
8	24.00	535.1451	535.1452	311.0556	493.1285	Mv-3 (6-acetyl)-glc
9	24.98	809.2389	809.2293	331.0883	C48H44O18	Mv-3-glc-Catechin ethylbridge
10	25.22	801.2278	801.2242	331.0963 493.1363 639.1797	C48H44O19	Mv-3 (6-p-coumaroyl)-glc-5-glc
11	25.48	771.2159	771.2138	301.0756 463.1262 609.1692	C37H38O16	Pn-3 (6-p-coumaroyl)-glc-5-glc
12	27.07	707.1603	707.1612	399.0759 561.1466	C38H40O16	A-type vitisin of Mv-3 (6-p-coumaroyl)-glc
13	27.61	655.1979	655.1953	331.0790 493.1387	C28H30O15	Mv-3 (6-caffeoyl)-glc
14	29.38	629.1782	629.1714	311.0607	C28H30O14	Mv-3 (6-p-coumaroyl)-glc
15	29.40	805.2021	805.1980	643.1479	C48H42O18	Mv-3-glc-4-vinylcatechin
16	30.56	625.1588	625.1557	463.1177	C28H30O14	Mv-3-glc-4-vinylcatechol
17	31.10	677.1598	677.1506	301.0557 463.1098	C42H42O15	Pn (6-p-coumaroyl)-glc
18	31.20	805.2001	805.1980	643.1487	C48H42O18	Mv-3-glc-4-vinylcatechin
19	31.56	609.1619	609.1608	467.1124	C28H30O13	Mv-3-glc-4-vinylphenol
20	32.06	639.1708	639.1714	477.1246	C28H30O14	Mv-3-glc-4-vinylgalactol
21	32.83	651.1753	651.1714	467.1121	C28H30O14	Mv-3 (6-acetyl)-glc-4-vinylphenol
22	33.00	771.1920	771.1915	463.0814	C48H42O16	Mv-3 (6-p-coumaroyl)-glc-4-vinylcatechol
23	33.72	755.2006	755.1976	467.1132 609.2082	C48H42O15	Mv-3 (6-p-coumaroyl)-glc-4-vinylphenol



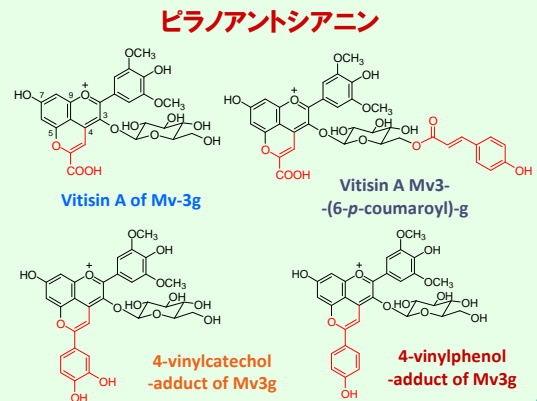
実際に医薬分野においては疾患と関連した代謝成分(バイオマーカー)の探索、化学工業(有機材料)では競合製品の成分比較分析や品質要因分析に用いられています。その他に農作物の産地判別や品質判定など多岐にわたる分野で浸透しつつあり、食品に限らずいろいろな分野での利用が可能。

赤ワインに含まれる色素成分のメタボローム解析 Metabolomic Analysis of Pigments in Red Wines

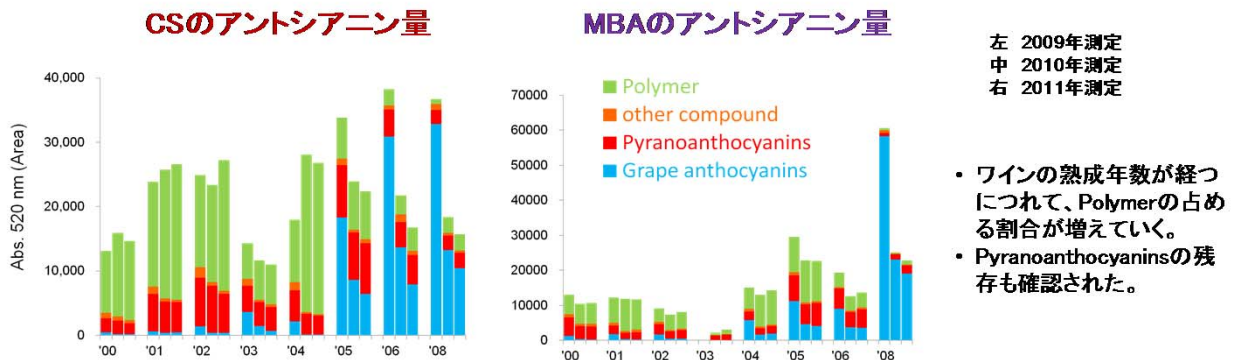
ワインの赤色は、ブドウ果皮から溶出するアントシアニンに由来し、熟成するにつれて、アントシアニンが変化し、ワインの色調が赤色から赤褐色へ変化する発酵や熟成中での安定な色素体の量や生成過程については不明なところが多い。

赤ワイン中の色素成分の経年変動を観測するため、2000年～2009年に山梨大学ワイン科学研究センターで製造したカベルネ・ソーヴィニヨン(CS)とマスカット・ベリーA(MBA)のワインを試験試料とし、メタボローム解析を利用したUPLC-TOFMSと多変量解析を組み合わせて分析した。

熟成によって増える主要化合物



CS, MBAワインの経年変化



1年ごとに3年間、分光光学的パラメータ及び超高速液体クロマトグラフィー-飛行時間型質量分析装置(UPLC-TOFMS)で測定を行った。UPLC-TOFMSで検出されたピークは、MarkerLynx XSTM(Waters)を使用して、代謝プロファイリングを行い、熟成による赤ワインの色素成分の影響を解析した。

色素重合体の中でも、ピラノアントシアニンアルコール発酵中に生成し、熟成するとアントシアニン-タンニン高分子複合体が増えてくるのがわかった。特に熟成が進んだワインは、アントシアニン-タンニン高分子複合体の占める割合が多かった。また、精製したアントシアニン-タンニン高分子複合体は、赤褐色を呈していることから、この高分子複合体が熟成した赤ワインの色調に大きく影響を及ぼしていることが考えられた。

アントシアニン-タンニン高分子複合体の分画



山梨大学 社会連携・研究支援機構

Email: renkei-as@yamanashi.ac.jp

Tel: 055-220-8759 Fax: 055-220-8757

