


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)のワインを使用
- UPLC-DAD-TOFMSによる測定はそれぞれワインに内部標準として genisteinを2 mg/Lに加え、0.45 μmの PTFEフィルターで透過し、2009年から1年毎に3年測定した

UPLC条件

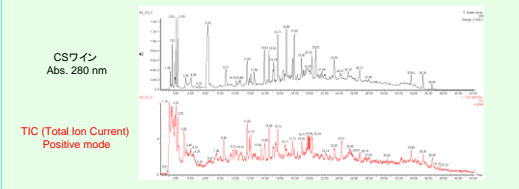
使用機器: ACQUITY UPLC®システム
 カラム: ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm, 2.1×100 mm, Waters)
 移動相: 0.1% HCOOH-CH₃CN gradient
 流速: 0.2 mL/min
 注入量: 5 μL
 カラム温度: 40°C
 DAD部: 200-600 nm

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

CSワイン
Abs. 280 nm

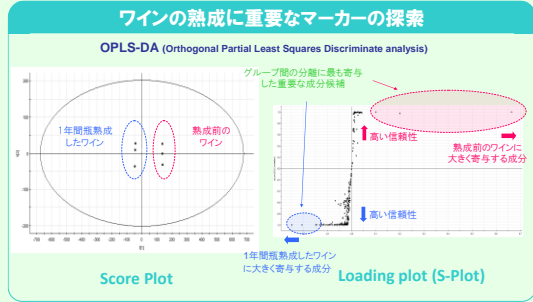


データ処理はMassLynx™ XS
統計処理は MarkerLynx™ XS(ともにWaters)を使用

UPLCで高速分離し、TOFMSから高速フルスキャンで精密質量が一斉に取得
40分で赤ワイン中の10,000以上の抽出ピークの精密質量と保持時間、並びに強度データをリスト化

OPLS-DAで検出した成分(アントシアニン・ピラノアントシアニン)

No.	RT (min)	Experimental m/z	Theoretical m/z	Experimental m/z	Theoretical m/z	Formula	Compound
1	15.01	605.1794	605.1794	301.0796	301.0796	C ₁₅ H ₁₁ O ₆	Pin-3,5-diglc
2	15.05	655.1879	655.1879	331.0873	331.0873	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	Pin-3,5-diglc
3	19.20	403.1378	403.1378	201.5789	201.5789	C ₁₁ H ₉ O ₆	Mu-3-glc
4	19.20	403.1378	403.1378	311.0853	311.0853	C ₁₃ H ₁₁ O ₆	Mu-3-glc
5	20.80	531.1196	531.1139	369.0636	369.0636	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	A-type vitisin of Pin-3-glc
6	21.56	561.1205	561.1204	399.0777	399.0777	C ₁₉ H ₁₅ O ₆	Vitisin A
7	22.98	603.1546	603.1550	399.0746	399.0746	C ₁₉ H ₁₅ O ₆	A-type vitisin of Mu-3-(6-acetyl)glc
8	24.60	536.1451	536.1462	331.0856	331.0856	C ₁₃ H ₁₁ O ₆	C ₁₃ H ₁₁ O ₆
9	24.98	609.1389	609.1393	331.0883	331.0883	C ₁₃ H ₁₁ O ₆	C ₁₃ H ₁₁ O ₆
10	25.22	801.2278	801.2242	331.0963	331.0963	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	C ₁₇ H ₁₃ O ₆
11	25.48	771.2109	771.2136	381.0796	381.0796	C ₁₆ H ₁₁ O ₆	C ₁₆ H ₁₁ O ₆
12	27.07	707.1603	707.1612	399.0799	399.0799	C ₁₇ H ₁₃ O ₆	A-type vitisin of Mu-3-(6-acetyl)glc
13	27.61	655.1879	655.1863	331.0790	331.0790	C ₁₃ H ₁₁ O ₆	C ₁₃ H ₁₁ O ₆
14	28.28	628.1752	628.1744	331.0807	331.0807	C ₁₃ H ₁₁ O ₆	C ₁₃ H ₁₁ O ₆
15	29.40	805.2021	805.1980	443.1479	443.1479	C ₁₉ H ₁₅ O ₆	C ₁₉ H ₁₅ O ₆
16	30.16	625.1888	625.1857	463.1177	463.1177	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	Mu-3-glc-4-vinylcatechol
17	31.10	673.1968	673.1966	381.0857	381.0857	C ₁₆ H ₁₁ O ₆	Pin-(6-acetyl)glc
18	31.20	805.2001	805.1980	443.1487	443.1487	C ₁₉ H ₁₅ O ₆	C ₁₉ H ₁₅ O ₆
19	31.56	609.1619	609.1609	447.1134	447.1134	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	C ₁₈ H ₁₃ O ₆
20	32.06	628.1708	628.1714	477.1246	477.1246	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	Mu-3-glc-4-vinylgallicacid
21	32.83	651.1753	651.1714	447.1121	447.1121	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	Mu-3-(6-acetyl)glc-4-vinylphenol
22	33.00	771.1920	771.1932	463.0834	463.0834	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	Mu-3-(6-acetyl)glc-4-vinylcatechol
23	33.72	752.2006	752.1976	447.1132	447.1132	C ₁₈ H ₁₃ O ₆	Mu-3-(6-acetyl)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。

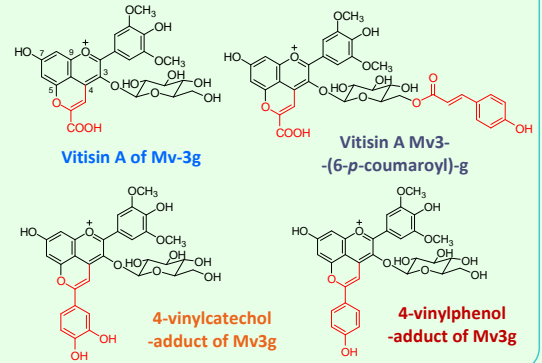
赤ワインに含まれる色素成分のメタボローム解析 Metabolomic Analysis of Pigments in Red Wines

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分析した。

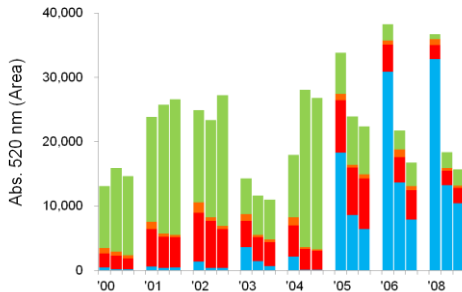
熟成によって増える主要化合物

ピラノアントシアニン

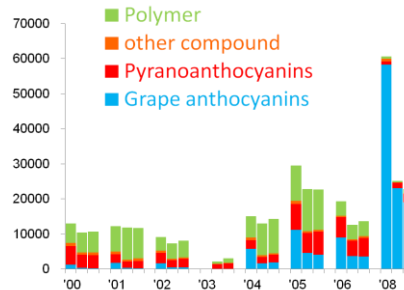


CS, MBAワインの経年変化

CSのアントシアニン量



MBAのアントシアニン量



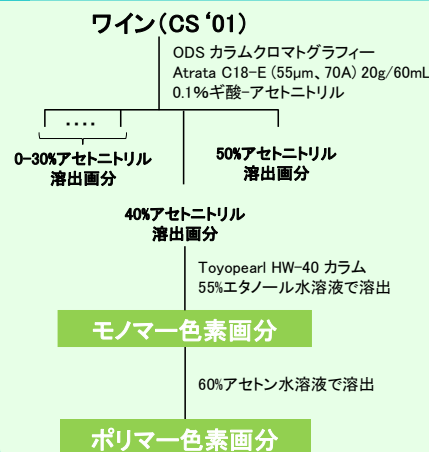
左 2009年測定
中 2010年測定
右 2011年測定

- ワインの熟成年数が経つにつれて、Polymerの占める割合が増えていく。
- Pyranoanthocyaninsの残存も確認された。

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は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



モノマー
色素画分
(CS 2002)

ポリマー
色素画分
(CS 2002)

シーズについてのお問合せ、ご相談先

Email: renkei-as@yamanashi.ac.jp

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

