

第 18 回メタボロームシンポジウム講演要旨

講演形態：ポスターセッション

演題：

オンライン SPE-GC/MS システムと固相誘導体化法を用いたコーヒーの香気成分分析

本文：

オンライン SPE-GC/MS システムとは、小型カートリッジを用いて固相抽出や固相誘導体化などを全自動で行い、その溶出液を全量 GC に導入し分析を行うシステムである。本演題では当該システムを用いた香気成分分析条件の検討結果とコーヒーの分析例について報告する。分析法の開発にあたって、溶出液の注入条件、誘導体化試薬量、GC 昇温条件、バイアル加温温度、固相樹脂の種類、窒素パージ時間、気相サンプリング手順など種々の検討を行った。

実試料は市販のドリップバッグ 6 種アソートを用いた。コーヒー粉 1.0 g に超純水 10 mL を加えサーモミキサーで加温したものを検液とし、オンライン SPE-GC システムにセットした。以降の操作についてはシステムによって全自動処理された。試料の入った 20 mL バイアルを加温後、小型固相カートリッジを連結したニードルとシリンジポンプで気相をサンプリングした。窒素パージにてカートリッジ中の水分を除去し誘導体化試薬を含浸させ反応させたのち、固相カートリッジとニードルを再度連結し溶出液を大量注入口に導入して GC/MS 分析に供した。

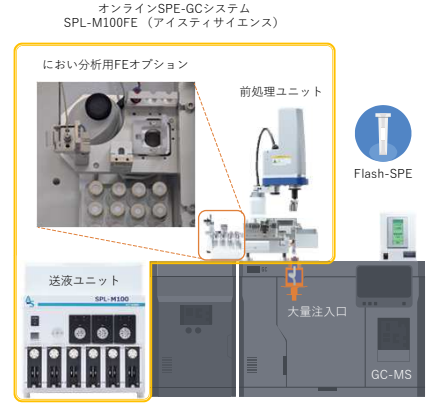
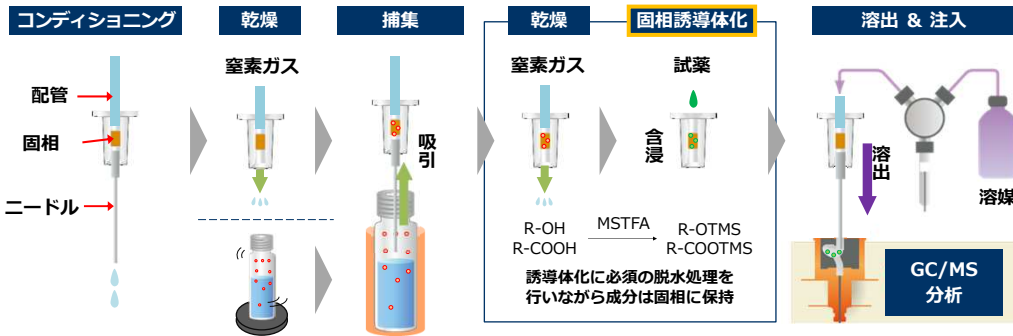
マススペクトル類似度による定性の結果、短鎖脂肪酸やフラン、ピラジンなどが検出された。これら検出ピークを主成分分析に供した結果、スコアプロットの位置関係とパッケージに示された「特長マップ」に似た傾向が見られた。ローディングプロットからは苦みや香ばしさの強い試料でフルフリルアルコール、華やかさの強い試料でフルフラールや 5-メチルフルフラールなどの特徴成分の検出強度が高いことがわかった。

本分析では塩や酸などを添加せずコーヒー飲用時に近い状態での香気を分析し、市販製品に示された特長に沿う形で成分を検出することが可能であった。また、遠心濃縮や凍結乾燥処理を含む通常の GC/MS メタボローム分析では難しい短鎖脂肪酸の検出が可能であることから、本分析法の有用性が示唆された。

オンラインSPE-GC/MSシステムと固相誘導体化法を用いたコーヒーの香り成分分析

○新川翔也, 浅井智紀, 佐々野僚一 (株式会社アイスティサイエンス)

1. システム概要



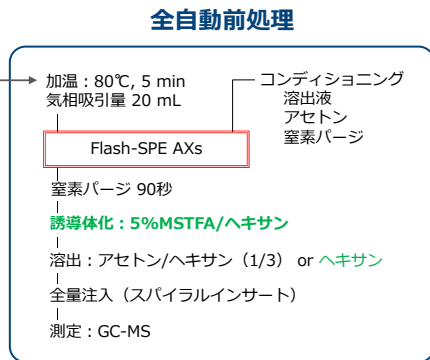
本報告の総括

オンラインSPE-GCシステムによる香り成分分析は、固相捕集-溶媒溶出法によって行われる。本システムは固相誘導体化が実施可能である特徴を有し、従来とは異なるクロマトグラムパターンを得ることができる。本報告ではコーヒー6種を分析試料とし、固相誘導体化あり/なし条件での比較を同じカラム(5%フェニル系)を用いて行った。

塩析有無の比較では、塩なし条件のみで親水性揮発成分の検出が確認され、その他の成分についても十分なピーク・ピーク強度が得られていたことから塩なし条件での比較とした。得られたピークについて主成分分析結果を比較した。誘導体化ありの場合はスプリット分析となりピーク数が少ないにも関わらず、両分析で種類に応じたクラスターが確認できた。この理由として、固相誘導体化によって短鎖脂肪酸を検出することが可能となり、コーヒーの特徴的な酸味を説明付ける変数として寄与していることが推察された。

2. 実験方法

前処理フロー例



3-1. 試料量と塩析有無の比較

サンプリング条件の検討として、試料量の比較と塩析有無の比較を行った(誘導体化処理なし)。液量の増加によってRSDが小さくなる傾向が確認されたが、試料量2.5mLの場合でも概ね同等のピーク数が得られた。塩なしの場合、検出ピーク数は約2/3になるが、ブランクピーク等を除いた推定可能成分ピーク162成分中の比較では検出閾値(強度1000)以下となった成分は5成分のみであった。

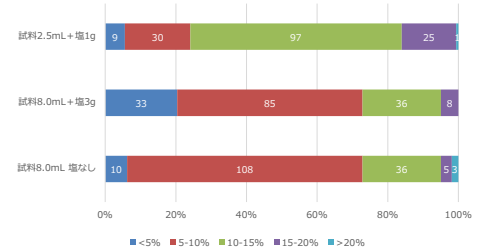
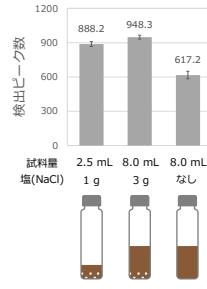


図1. 各条件の検出ピーク数

図2. 各条件における推定可能成分ピークのRSD分布と割合
データラベル: 当該RSD分布のピーク数

また、塩なし条件のみで検出されたピークとして2-フランノンと5-ヒドロキシメチルフルフラールが推定された。いずれもLogPow = -0.6, -0.778 (HMDBより引用) と親水性の成分であり、塩添加によって気相への移行が妨げられていると考えられる。

以降の実験では、上記を考慮したことに加えて実際の飲用時に近い条件としてバイアル中液量を8mLとし塩を添加しない条件とした。

3-2. コーヒー アソートパック6種の分析結果

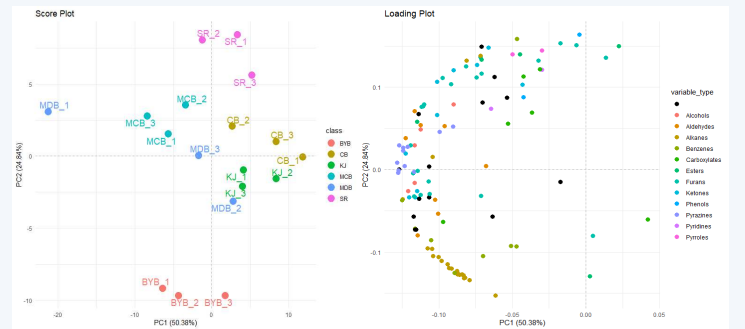
主成分分析結果



GC-MS条件①: 誘導体化なし

注入口条件	LVI-S250 (AiSTI Science)
注入口	大量注入
注入条件	80°C (0.3 min)-100°C/min-290°C
注入口温度	100 (0.3 min)-Splitless (2.7 min)-50 (1 min)-15
スプリット比	
GC条件	
カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. x 30 m, df;0.25 μm
制御モード	コンスタントフロー、1.4 mL/min
オープン温度	40°C (4 min)-5°C/min-160°C-30°C/min-310°C (2 min)
MS条件	
インターフェース温度	290°C
イオン源温度	260°C
取得モード	Scan (m/z 35-350)

誘導体化なし、大量注入 (ほぼ全量導入)



GC-MS条件②: 誘導体化あり

注入口条件	LVI-S250 (AiSTI Science)
注入口	スプリット注入
注入条件	220°C (0.5 min)-100°C/min-290°C
注入口温度	1:50
スプリット比	
GC条件	
カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. x 30 m, df;0.25 μm
制御モード	コンスタントフロー、1.0 mL/min
オープン温度	60°C (2 min)-5°C/min-130°C-30°C/min-310°C (2 min)
MS条件	
インターフェース温度	290°C
イオン源温度	260°C
取得モード	Scan (m/z 35-350)

誘導体化あり、スプリット注入 (1:50)

