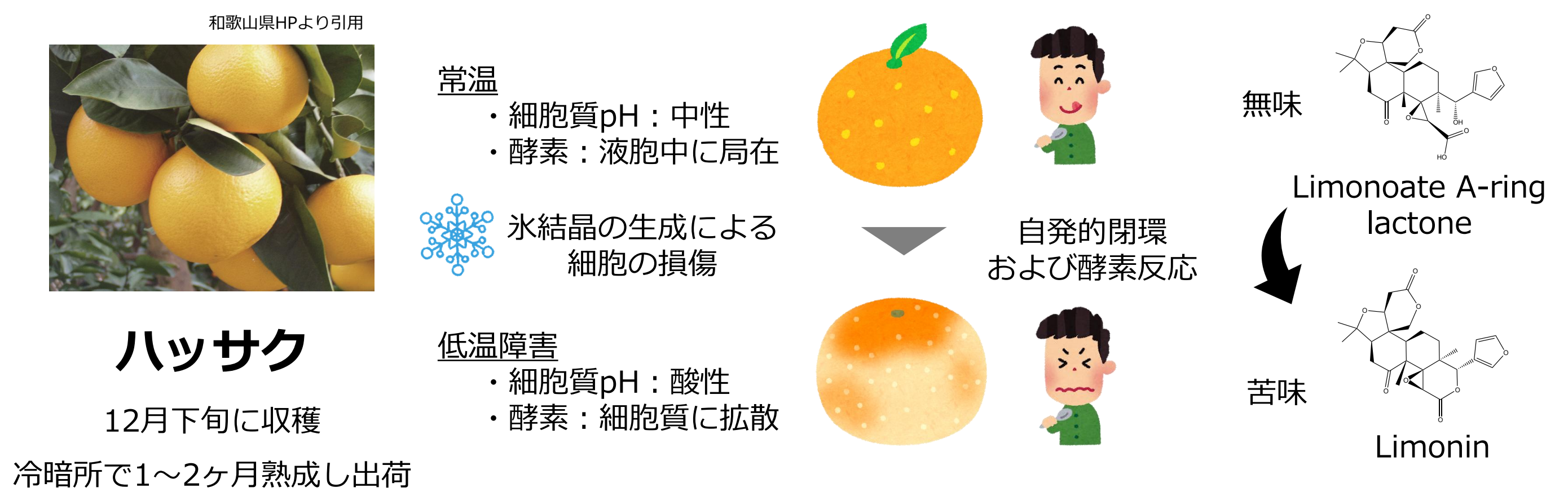


全自動オンライン固相抽出-GC/MSシステムを用いた 貯蔵温度の異なるハッサク果実の香味関連成分分析

○新川翔也, 佐々野僚一 (株式会社アイスティサイエンス)

1. 研究背景



ハッサク

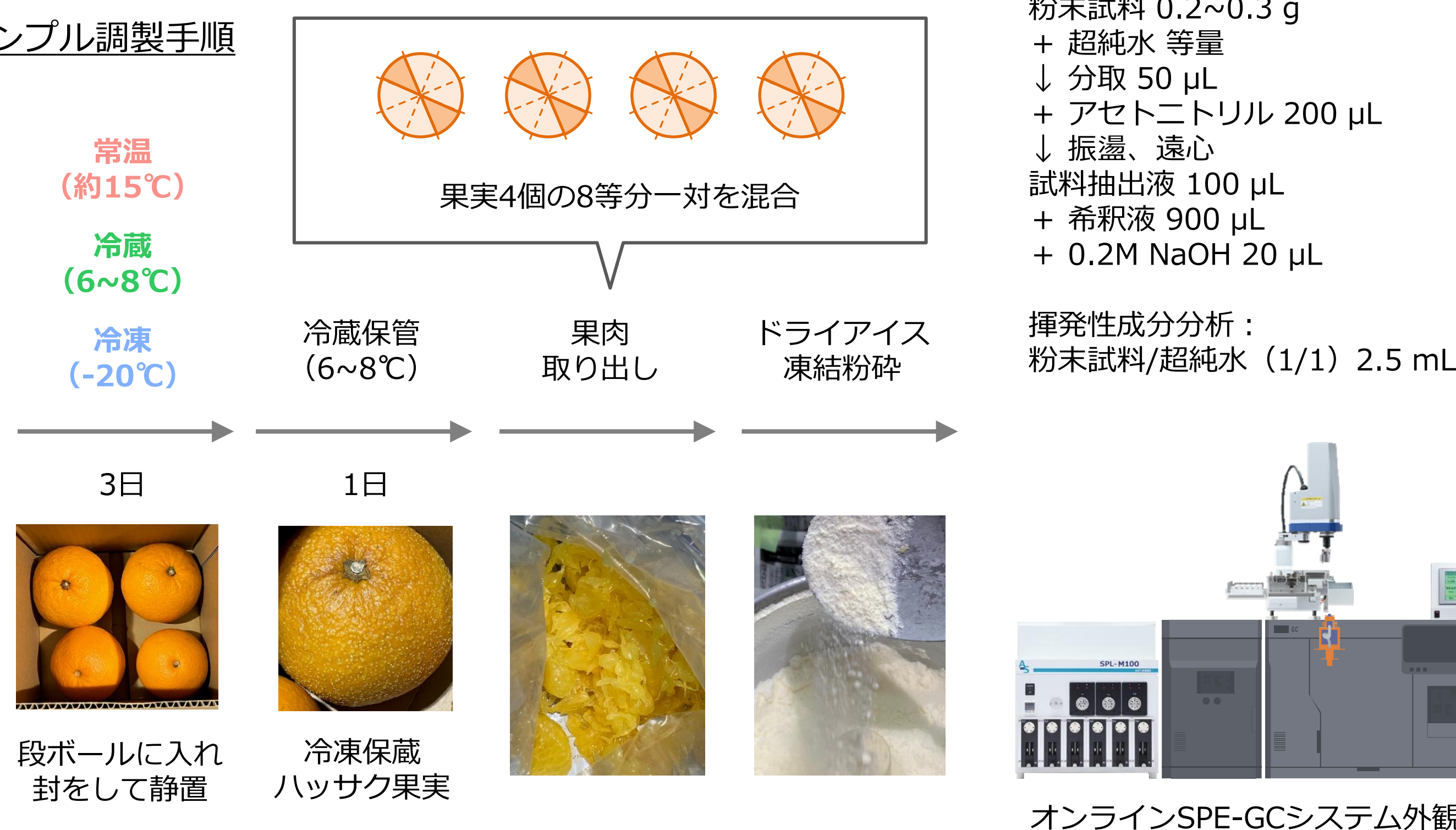
12月下旬に収穫

冷暗所で1～2ヶ月熟成し出荷

ハッサクは低温障害により品質が変化することが知られているが、苦味物質であるリモノイド類以外の成分変化については知見が限られている

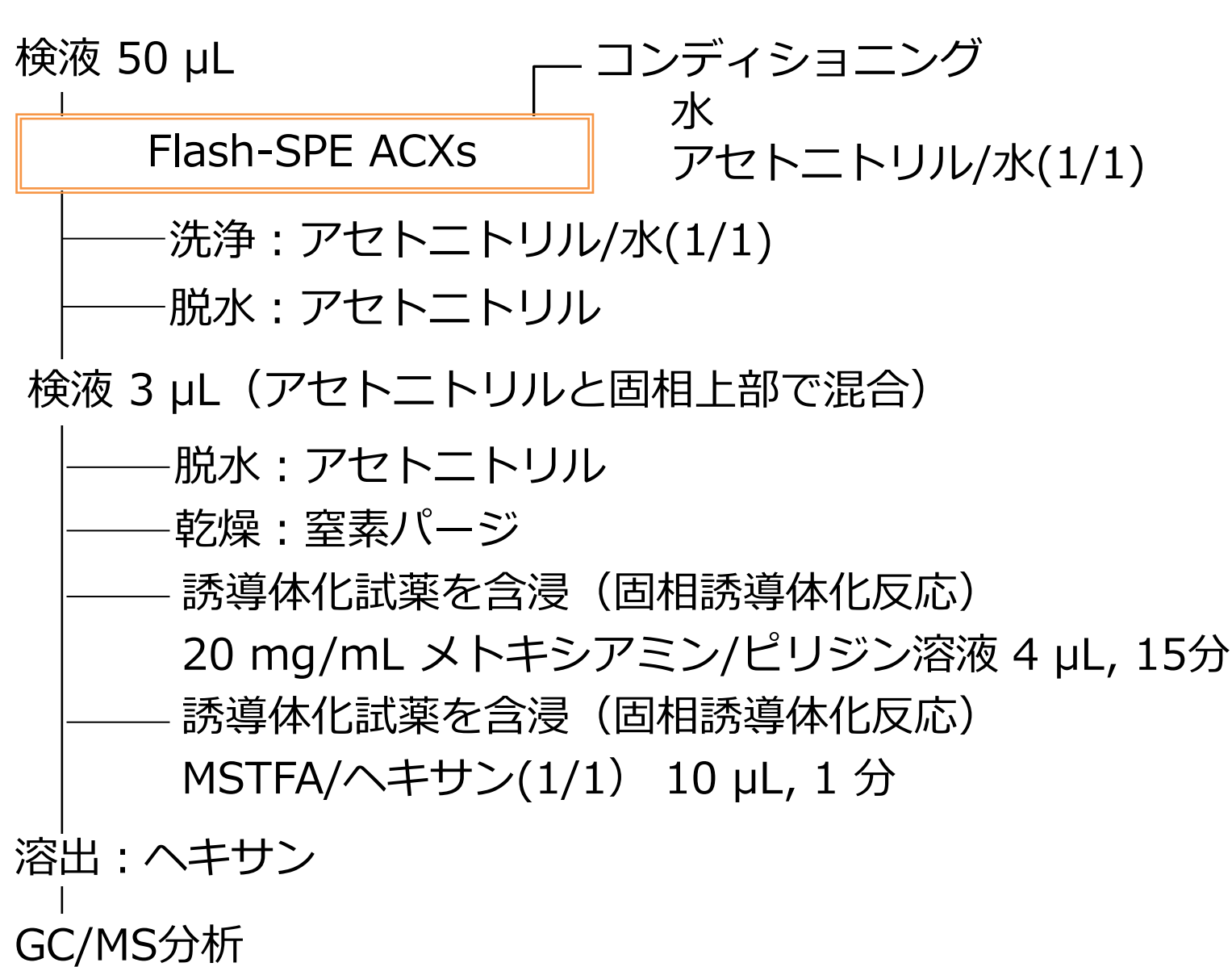
2. 実験方法

サンプル調製手順

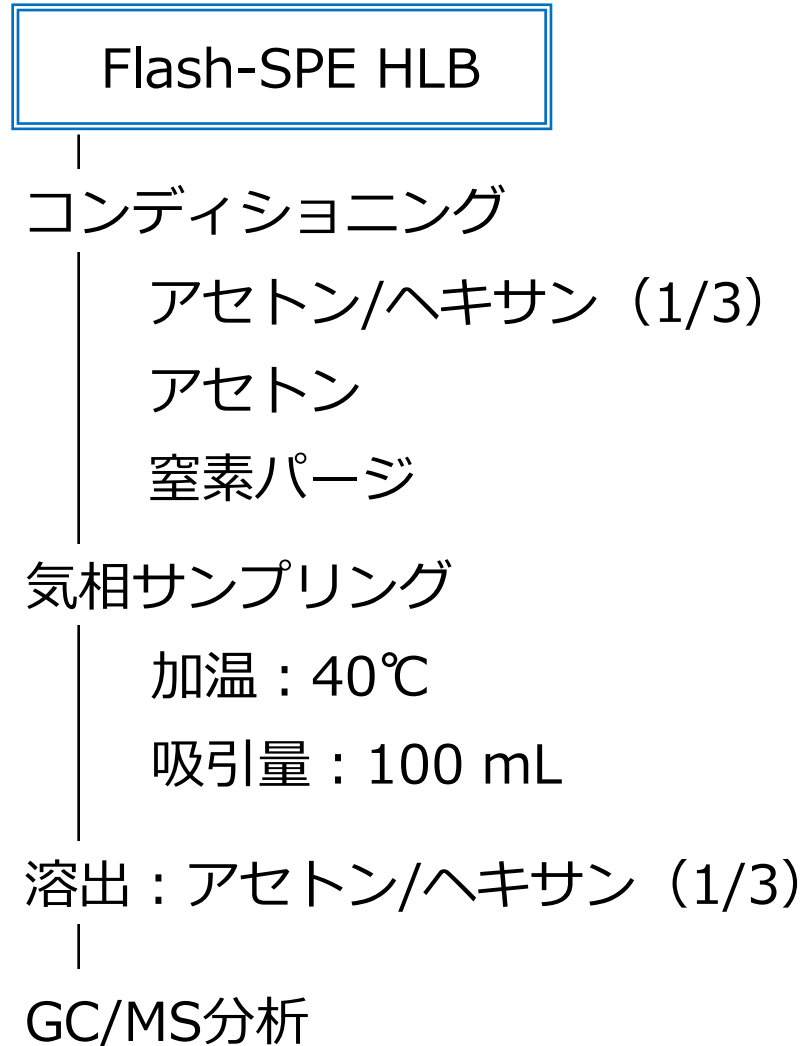


自動前処理フロー

代謝物分析



揮発性成分分析



サンプリング条件およびGC-MS条件

代謝物分析		揮発性成分分析
固相カートリッジ	Flash-SPE AXs	Flash-SPE HLB
サンプリング	液体 50 µL	40℃, ヘッドスペース 100 mL通気
注入方式	スプリット注入	大量注入
インサート	スパイラルインサート	スパイラルインサート
注入口温度	220℃ (0.50 min)-100℃/min-290℃	55℃ (0.30 min)-100℃/min-250℃
スプリット比	50:1	28 mL/min (70 kPa, 0.30 min) → Splitless (2.75 min) → 50 mL/min (1 min)
ガスクロマトグラフ	7890B (Agilent)	7890B (Agilent)
流量制御	コンスタントフロー, 1.0 mL/min	コンスタントフロー, 1.4 mL/min
プレカラム	0.25 mm i.d. × 0.5 m	0.25 mm i.d. × 0.5 m
分析カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.5 µm	InertCap 5HT, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.25 µm
オープン温度	100℃ (2 min) -10℃/min- 320℃ (2 min), Total 26.0 min	40℃ (4 min) -10℃/min-160℃- 30℃/min -310℃ (2 min), Total 23.0 min
トランスファーライン	290℃	290℃
質量分析計	5977B (Agilent)	5977B (Agilent)
イオン源温度	260℃	260℃
データ取得モード	Scan (m/z 70-600)	Scan (m/z 25-350)

3. 結果と考察

3.1 代謝物分析

代謝物分析によって得られた同定ピーク43成分を主成分分析に供した結果(図1)、貯蔵温度によって異なる方向に代謝が進行していることが示唆された。常温貯蔵ではグルコースやフルクトースなどの単糖類で高い検出強度を示し、呼吸によるショ糖の分解が亢進していると推測された。冷凍貯蔵では冷却過程で誘導されたと思われるγ-アミノ酪酸やプロリンなども高強度を示したほか、*cis*-アコニット酸、コハク酸、フマル酸なども高強度を示し、TCA回路関連の代謝反応が低温により変化したこれらの成分が蓄積していると考えられた(図2)。以上のことから、常温貯蔵では糖度が増し酸味の少ない果実に変化していると考えられる。

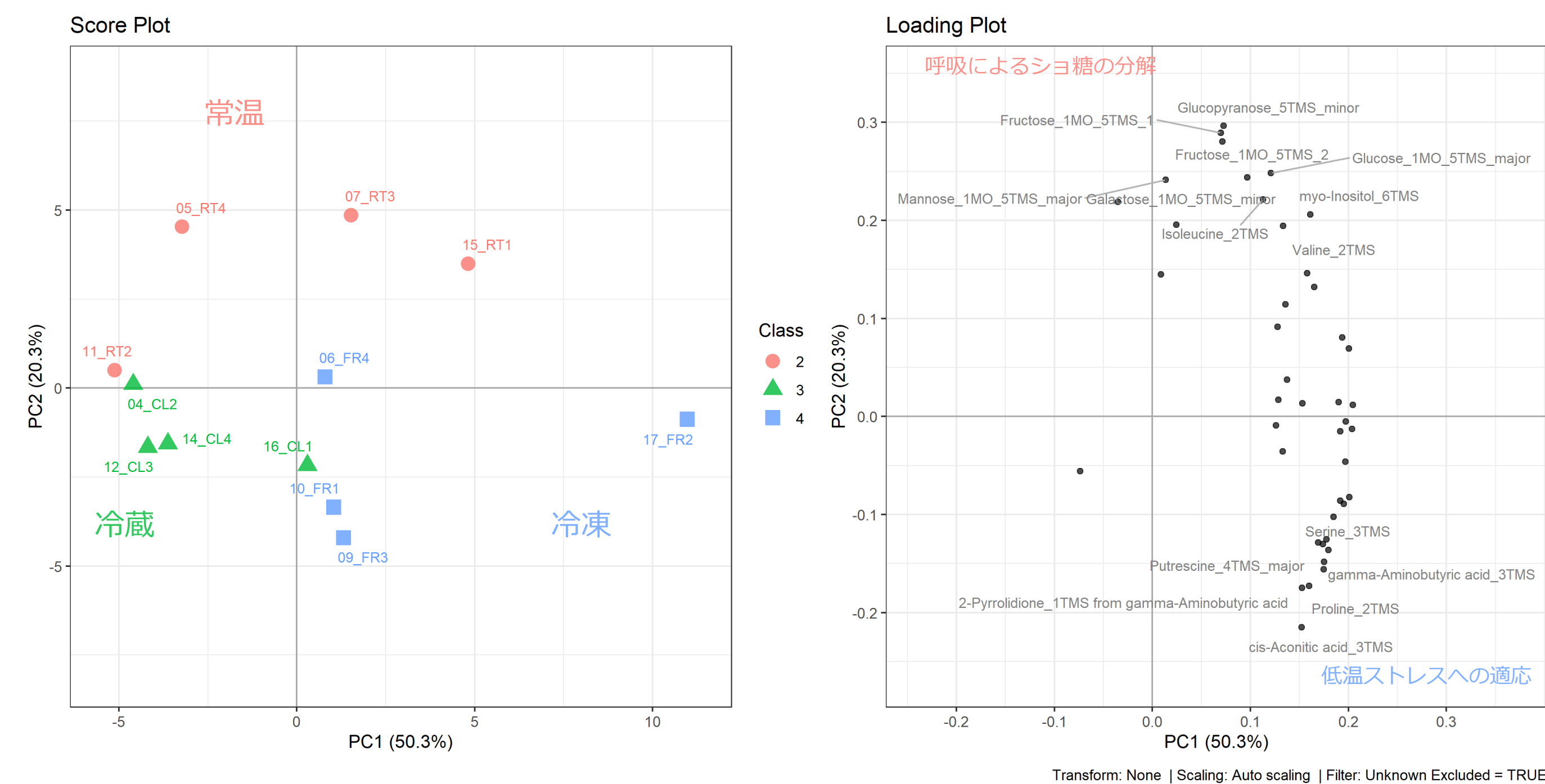


図1：貯蔵温度の異なるハッサク果実の代謝物分析によって得られた同定ピーク（43成分）による主成分分析

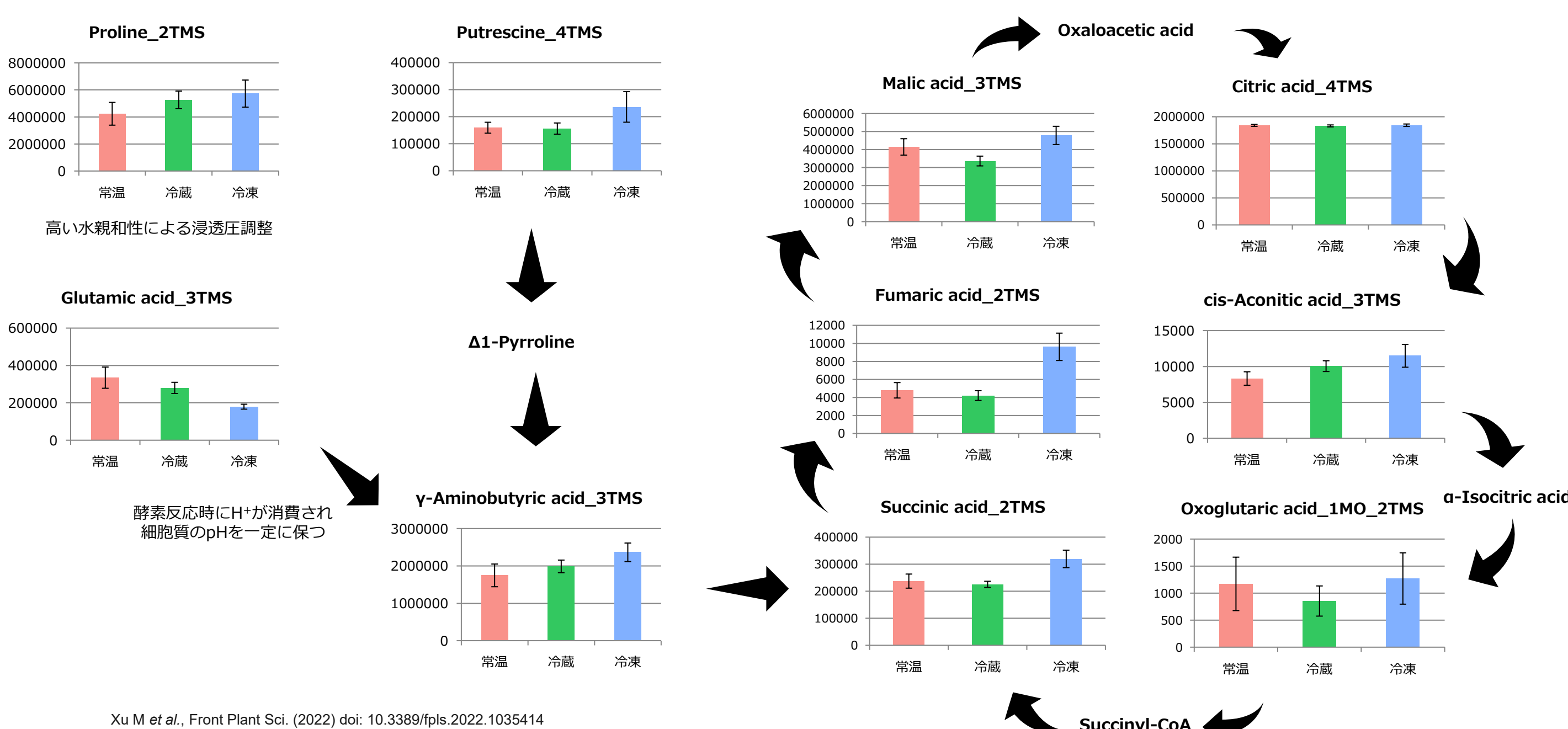


図2：低温障害に関連する代謝経路と各成分のピーク面積値比較(n=4, 平均±標準偏差)

3.2 揮発性成分分析

バイアルヘッドスペース中揮発性成分の分析結果（図3）では、常温貯蔵試料でモノテルペン類が高强度を示し、他の貯蔵条件に比べると生成高が維持されている。冷凍貯蔵ではリナロールや α -テルピネオールなどのテルペンアルコール類の強度が高く、これらの成分が配糖体として蓄積されている液胞が損傷を受け細胞質中での加水分解により遊離した可能性がある。冷蔵貯蔵ではC7/C9アルデヒド（ヘプタナールおよび2-ヘプタナール、2-ノナナール）が常温貯蔵と同等の強度を示した一方でC6アルデヒド（ヘキサナール、2-ヘキセナール、3-ヘキセナール）は保蔵温度が高いほど高い検出強度を示した。この温度感受性の違いは由来となっている脂肪酸の違いや酸化メカニズムの違いによるものと推察された。以上のことから、貯蔵温度によって香気成分の組成が変化していることが明らかとなった。

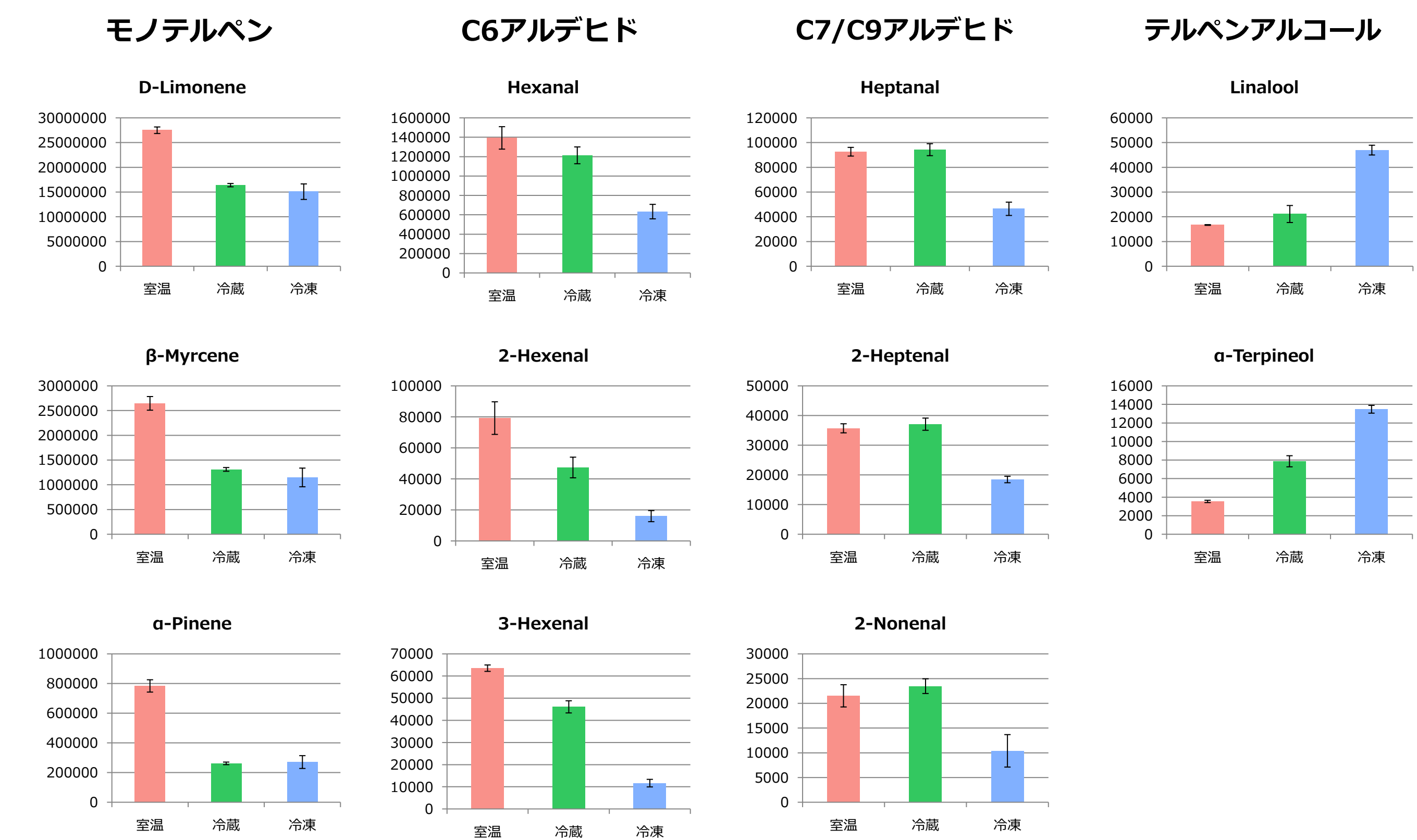


図3：ハッサク果肉のバイアル中気相から検出された各成分のピーク面積値比較
(n=3, 平均±標準偏差, 検出成分の一部を抜粋)

4. 結言

オンラインSPE-GC/MSシステムを用いたハッサク果肉の香味関連成分の分析を行い、貯蔵温度が与える影響について考察した。糖類を多く含む果肉に対し固相脱水誘導体法を用い、アミノ酸有機酸を含めた一斉分析を行った結果、貯蔵温度による代謝変動の差異を考察することが可能であった。同一機器で揮発性成分分析を実施し検出対象成分を広げることで、低温障害がハッサク果肉の香味に与える影響について視座を高めることが可能となった。

今後も和歌山県の特産品であるハッサクを対象とし、柑橘の苦味原因物質であるリモノイド類について抽出方法・固相前処理手順を確立しオンラインSPE-GC/MSシステムの対象成分を拡大していくほか、貯蔵前後の変化や他の保蔵方法が香味に与える影響を明らかにしていきたい。