
短 報

NMR メタボローム解析手法による食品品質評価の可能性

隅谷 栄伸, 笹井 実佐, 大塚 貴子

Potential of Food Quality Evaluation by NMR-based Metabolomics Analysis

Hidenobu Sumitani, Misa Sasai and Takako Ootsuka

The aim of this study is to clarify the feasibility for evaluating the quality of various commercial beverages, such as green tea, citrus juice, and wine, by means of high resolution 1H NMR spectroscopy coupled with multivariate statistical analysis.

The technique was effective in investigating the difference among the product difference of each drink, or preservation conditions, and the influence of light irradiation. The measurement by NMR equipment is very simple and nondestructive. Therefore, it can apply to quality control of a product.

Key words: NMR, metabolome analysis, beverage, quality control

食品は多くの成分を含有し、その製造工程や保存状態によって成分が変動する。今まで食品の品質を評価するために、主要成分や特徴的成分の個別分析評価が行われてきたが、近年、化学データから統計解析により情報を引き出すケモメトリックス（計量化学）が発展し、全ての成分を対象にした評価がなされるようになった¹⁻⁷⁾。それには質量分析やNMR（核磁気共鳴スペクトル）などの機器分析装置による網羅的成分測定によるメタボローム解析が用いられる。質量分析法は、そのスペクトル等から物質の構造推定が可能な優れた方法であるが、成分抽出操作等の前処理やクロマトグラフィーによる分離操作を伴う。NMR法は混合物を分離精製することなく、非破壊で計測し、それを試料のプロファイルとして表現できる長所がある。このようなNMRメタボローム解析手法を用いた食品評価事例⁸⁾も報告されており、本論文では、各種飲料製品の内容物評価に対するNMRメタボローム解析手法の適用例を示し、今後の利用の可能性を述べる。

実験方法**1. 測定試料**

試料として、以下の市販製品を用いた。

(1) 緑茶飲料製品

3社（A社、B社、C社）の500 mL容PETボトル詰製品を用いた。購入後、測定に供するまで4℃に保管した。A社製品の一部は、55℃で2週間および4週間保存後、測定に供するまで4℃に保管した。

(2) 果汁飲料

500 mL容PETボトル詰100%柑橘果汁飲料製品（オレンジと温州ミカン果汁のブレンド品）を購入後4℃に保管した。製品の一部は、55℃に1週間、2週間および3週間保存後、測定に供するまで4℃に保管した。なお、果汁飲料はWHATMAN 0.45 μm PVDF w/GMF（3層フィルター）でろ過し、測定に供した。

(3) ワイン飲料

350 mL容PETボトル詰め白ワインおよび赤ワインをそれぞれ購入後、4℃に保管した。光照射試験を行うため、室温下、2400Lxで2週間照射後、4℃に保管し、「照射処理品」とした。ただし、1日の照射時間は12時間である。同様に照射しない試料として「暗所保存品」も調製した。なお、試料は0.45 μmフィルターでろ過し、測定に供した。

2. NMR測定および解析方法

NMR試料管（φ 5 mm）に0.5 mLの試料液と、0.05 mLのトリメチルシリルプロパン酸重水素化物（TSP-d4）の重水溶液（約0.02%）を添加した。NMR装置には、JNM-ECA400（JEOL製、400 MHz）を用いて、1H-NMRを測定した。なお、水系飲料の測定では、プレサチュレーション法で4.7 ppm付近に観測される水由来のシグナルを消去した。ワイン（アルコール飲料）の測定では、WET法を用い、1 ppm、3.5 ppm、4.7 ppm付近の水およびエタノール由来のシグナルを消去した。

NMRスペクトルの解析には、Alice2 for metabolome（JEOL Resonance製）を用いた。

結果および考察

1. 緑茶飲料の主成分分析

(1) 銘柄の違い (3 群比較)

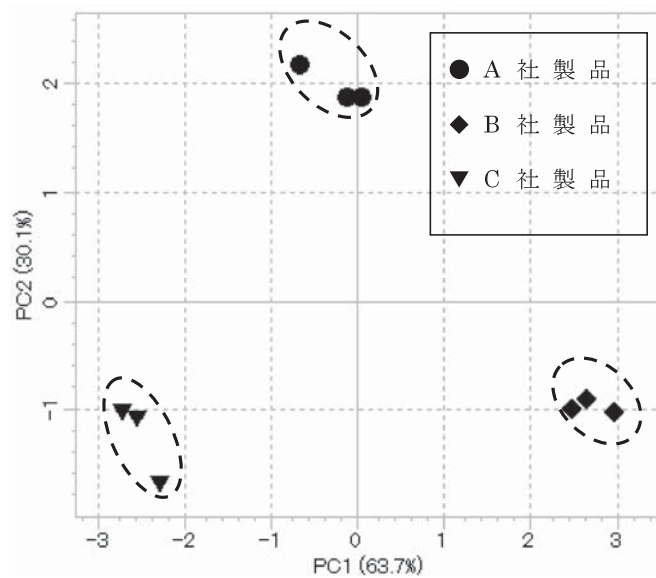
3社製品のNMRスペクトルデータを主成分分析した結果を図1(a)に示す。寄与率は、データの全情報に対して各主成分が占める割合であるが、第1主成分の寄与率が63.7%、第2主成分の寄与率が30.1%で、第2主成分までの累積寄与率が93.8%であり、第2主成分までで全体の情報がほぼ集約されていると言える。図1(a)に示すとおり、銘柄によって、明確に分類されており、緑茶成分の違いがNMRスペクトルに反映されることが示唆された。この事

からNMRを用いて試料間の差の評価や分類への利用が期待できる。

(2) 55°C保存品 (3 群比較)

A社製品を55°Cで2週間および4週間保存した試料と4°C保存した試料のNMRスペクトルデータを主成分分析した結果を図1(b)に示す。第1主成分の寄与率が59.1%、第2主成分の寄与率が29.4%で、第2主成分までの累積寄与率が88.5%であった。寄与率が約60%の第1主成分の正の方向に沿って、試料の経時変化を捉えていることから、緑茶飲料の成分変化を経時的にNMRを用いて客観的に評価できる可能性が示唆された。

(a) 銘柄の違い



(b) 保存温度の違い (A社製品)

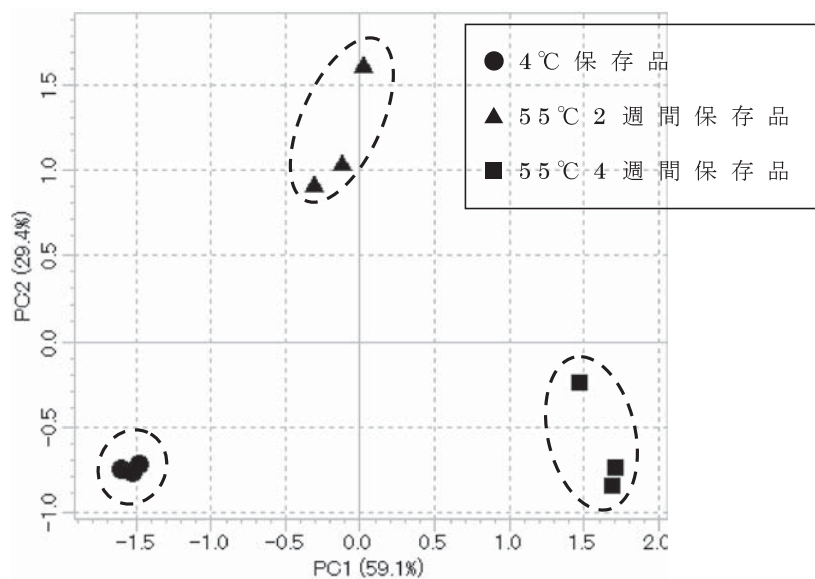


図1 緑茶飲料製品の主成分分析 (Scores: サンプルプロット)

2. 果汁飲料の主成分分析

果汁飲料を55℃で1週間、2週間および3週間保存した試料と4℃保存した試料のNMRスペクトルデータを主成分分析した結果を図2に示す。第1主成分の寄与率が92.6%で、第1主成分に沿って、試料の経時変化を捉えて

いる。果汁飲料を55℃で1週間保存すると大きく成分変化があり、その後2週間および3週間では成分変動が徐々に小さくなったと推測される。比較的固形分量が多い果汁飲料も緑茶飲料と同様に、NMRスペクトルで経時の変化を追跡できる可能性が示唆された。

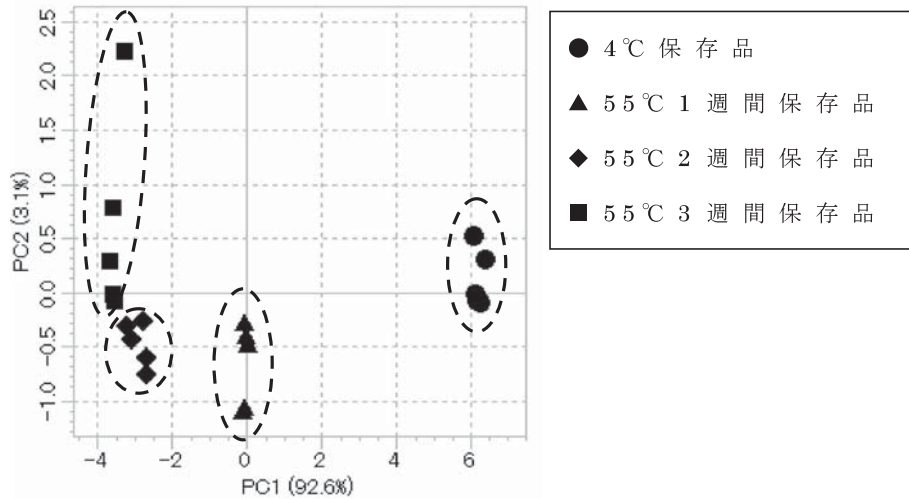


図2 果汁飲料製品の主成分分析 (Scores: サンプルプロット)

3. ワインの主成分分析

アルコール飲料であるワインには、水以外にエタノールを含むため、シグナル飽和処理範囲が1カ所に限定されるプレサチュレーション法ではなく、複数箇所を設定できるWET法を用いて測定を行った。PETボトル詰めワイン製品に対する光照射による成分への影響を調べるため、光照射処理品と暗所保存品を調製し、NMR測定データを

主成分分析した。白ワイン製品と赤ワイン製品のそれぞれについて試験した結果を図3および図4にそれぞれ示した。第1主成分の寄与率が、白ワインでは64.6%、赤ワインでは82.1%となり、光照射処理品と暗所保存品は明確に区別された。ワインに対する光照射が成分に影響を与えていると推測される。このようにアルコール飲料についてもNMRによる評価が可能であることがわかった。

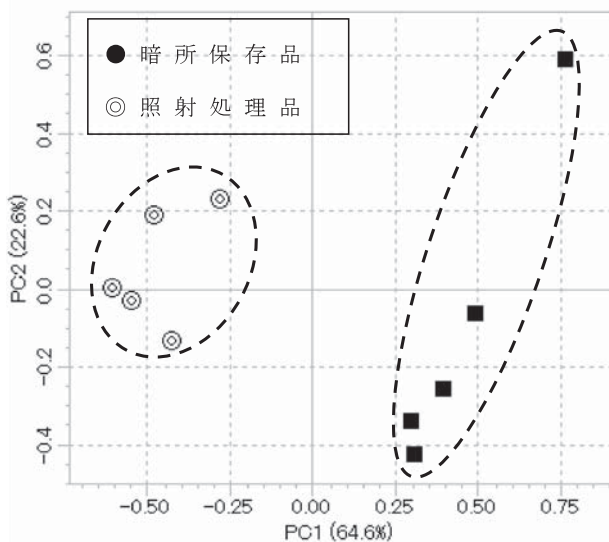


図3 白ワイン飲料製品の主成分分析 (Scores: サンプルプロット)

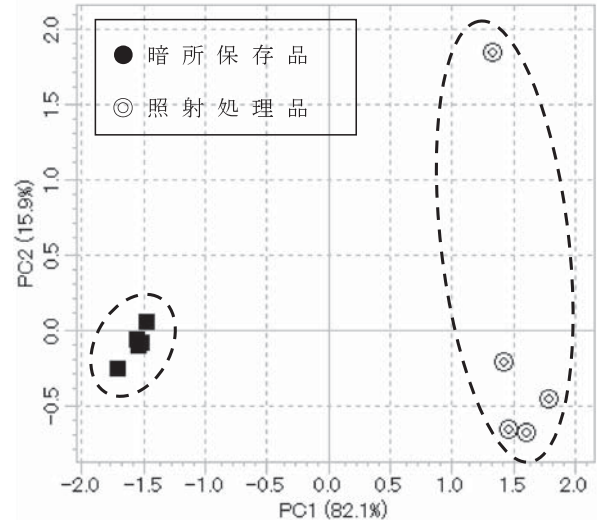


図4 赤ワイン飲料製品の主成分分析 (Scores: サンプルプロット)

まとめ

食品の品質を評価する手法の一つとして、NMRによるメタボローム解析手法の有用性を調べるため、様々な市販飲料製品を使用して試験を行った。NMRによって得られた混合成分のシグナルパターンは、その試料固有のプロファイルといえる。緑茶飲料や果汁飲料を用いた試験では、銘柄の識別や経時変化の程度を評価できる可能性が示唆された。ワイン飲料の試験では、NMRで使用されるWET法を用いることで、アルコール由来のシグナルの妨害を抑制でき、製品への光照射試験の評価に利用できることがわかった。このようにNMR装置による測定は非常に簡便で非破壊分析であるため、迅速に成分変化を評価でき、様々な飲料製品の熱履歴や原料検査などの品質管理への応用が期待される。

参考文献

- 1) 福崎英一郎, メタボロミクス (代謝物総体解析) の食品工学への応用, *生物工学*, **85**, 488-491 (2007).
- 2) Pongsuwan, W., Fukusaki, E., Bamba, T., Yonetani, T., Yamahara, T. and Kobayashi, A., Prediction of Japanese Green Tea Ranking by Gas Chromatography / Mass Spectrometry-Based Hydrophilic Metabolite Fingerprinting, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 231-236 (2007).
- 3) 山本慎也, 馬場健史, 福崎英一郎, 佐野敦志, 小玉侑加子, 今村美穂, 小幡明雄, GC/TOFMSによるしょうゆ成分のプロファイリングおよび定量的記述分析法との相関性, *醤油の研究と技術*, **39** (No.3), 131-139 (2013).
- 4) 越智浩, 食のメタボロミクス解析応用の最新動向 3 GC/MSを用いたメタボローム解析のチーズ品質評価への応用, *食品と開発*, **48** (No.11), 10-12 (2013).
- 5) 杉本昌弘, メタボローム解析を用いた日本酒の味と成分の関係の解明, *Bio Industry*, **29** (No.11), 52-58 (2012).
- 6) 及川彰, 食のメタボロミクス解析応用の最新動向 食品のメタボローム解析動向, *食品と開発*, **48** (No.11), 4-6 (2013).
- 7) 及川彰, メタボロミクスの農業・食品分野への応用, *化学と生物*, **51** (No.9), 615-621 (2013).
- 8) 根本直, 新しい食品計測法「NMR-メタボリック・プロファイリング」入門, *ジャパンフードサイエンス*, **51** (No.12), 22-29 (2009).