

HS-SPME-GC-TOFMSによる日本酒中の香気成分分析

関連製品：質量分析計(MS)

はじめに

日本酒は米と麴と水を原料として日本伝統の製法で醸造したアルコール飲料である。日本酒の味や香りは原料や製法の違いで変化する。例えば本醸造酒はまろやかな風味が特徴であり、吟醸酒は華やかでフルーティーな風味が特徴である。本MSTipsでは日本酒中の香気成分を分析し、比較を行った。測定法にはヘッドスペース-固相マイクロ抽出-ガスクロマトグラフ-飛行時間質量分析法(HS-SPME-GC-TOFMS)を用いた。HS-SPMEではヘッドスペースバイアルにサンプルを封入し、その気相部分にSPMEファイバーを露出して揮発成分を吸着させる。揮発成分を容易に抽出および濃縮することで高感度な分析が可能である。GC前処理オートサンプラーHT2850T(HTA S.R.L.)ではこのHS-SPMEに加え、シリンジアタッチメントの交換により液打ちやHS-ガスタイトシリンジ注入にも対応可能である。GC-TOFMSおよび解析ソフトウェアにはNISTデータベース未登録物質にも有効なJMS-T2000GCとmsFineAnalysis AIを用いた。

実験

サンプルには市販の本醸造酒、吟醸酒を用い、それぞれ10mLを20mLヘッドスペースバイアルに封入した(Figure 1)。HT2850Tにより40℃30分のHS-SPME抽出を行い、JMS-T2000GCにてEI/FI測定を行った(Figure 2)。データ解析にはmsFineAnalysis AIを用い、定性解析と各サンプルn=3回測定における統計差異分析を行った。Table 1に測定条件の詳細を示す。



Figure 1 Sake samples



Figure 2 JMS-T2000GC with HT2850T autosampler

Table 1 Measurement conditions

HS-SPME conditions			
Auto-sampler	HT2850T (HTA S.R.L.)	SPME fiber	DVB/CAR/PDMS 2cm (MERCK)
Sample	10mL sake in 20mL headspace vial	Extraction	40 °C 30min
Mode	HS-SPME	Desorption	250 °C 2min

GC conditions		MS conditions	
Gas Chromatograph	8890 GC (Agilent Technologies)	Spectrometer	JMS-T2000GC (JEOL Ltd.)
Column	DB-WAXETR 30m x 0.25mm, 0.25μm (Agilent Technologies)	Ion source	El/FI combination
Injection mode	Splitless	Ionization	El(70eV), FI
Inlet temperature	250 °C	Ion source temperature	230 °C (EI)
Oven temperature	40°C(2min) - 10°C/min - 250°C(10min)	Mass range	m/z 19-800
Carrier flow	He, 1.0mL/min	Analysis software	msFineAnalysis AI

測定結果

Figure 3に本醸造酒と吟醸酒のTICクロマトグラムを示す。本醸造酒からはエタノール、酢酸イソアミル(吟醸香、メロン様)、フェニルエチルアルコール(日本酒の基調香、バラ様)が検出された。吟醸酒からはカプロン酸エチル(吟醸香、リンゴ様)が強く検出された。

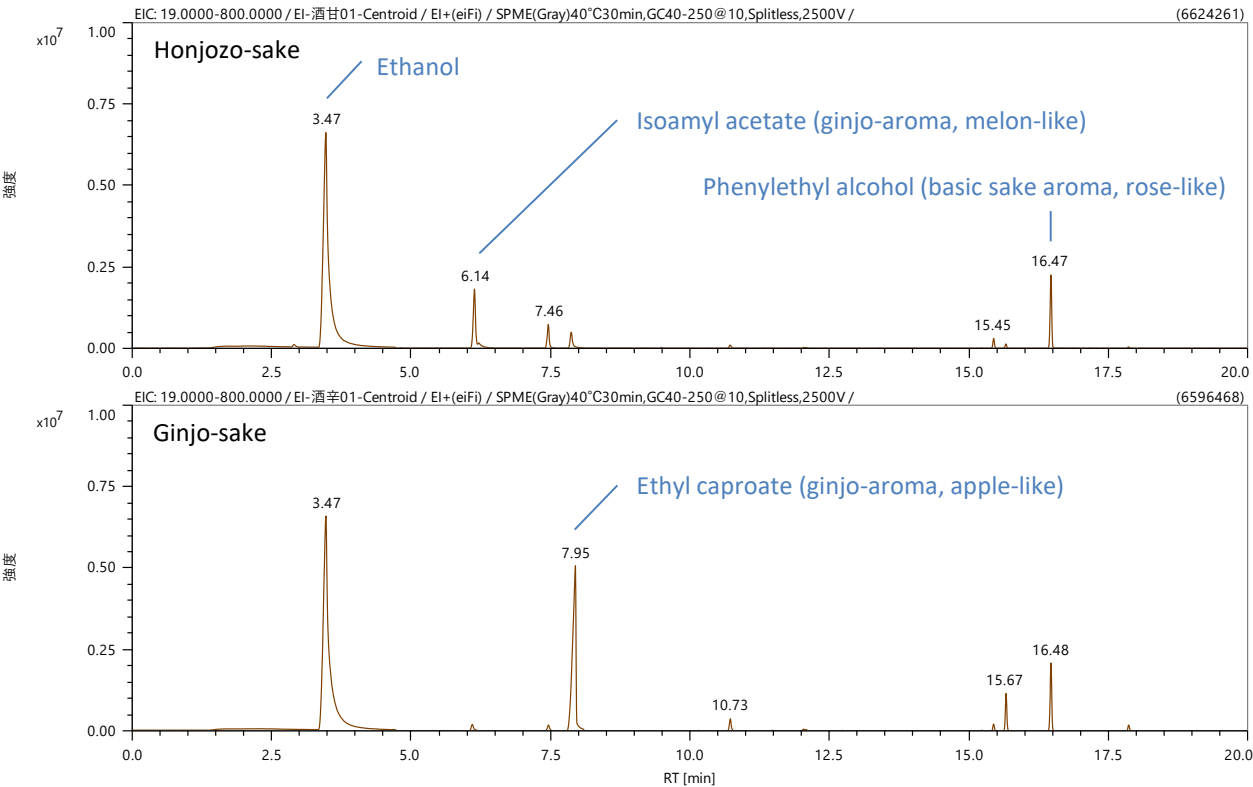


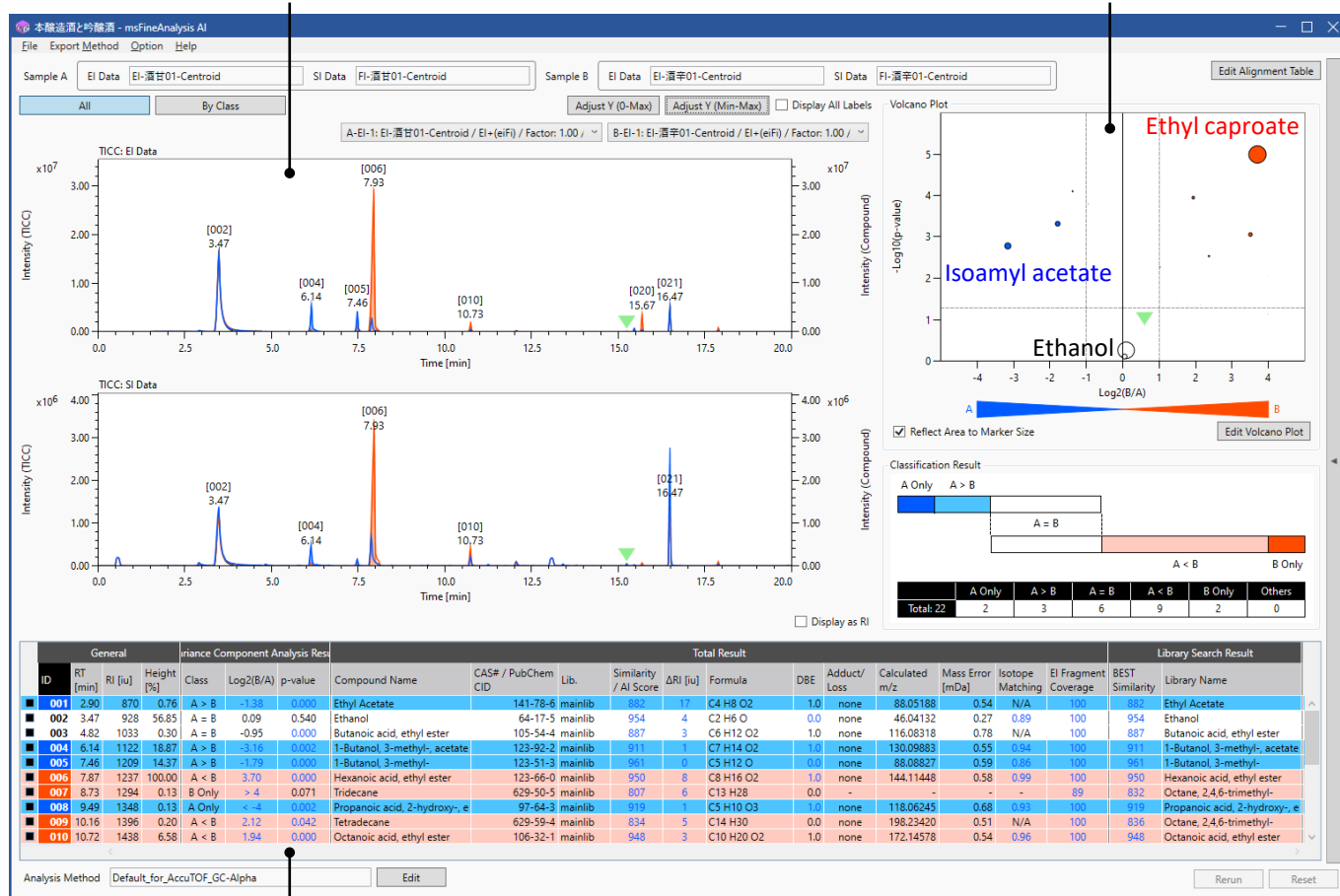
Figure 3 TIC chromatograms of honjozo-sake and ginjo-sake

この資料に掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。

Figure 4にmsFineAnalysis AIによる本醸造酒と吟醸酒の差異分析結果を示す。最大ピークとの強度比0.1%までの22ピークのうち、本醸造酒で強く検出されたものは5ピーク、吟醸酒で強く検出されたものは11ピークであった。統計差異分析により得られたボルケーノプロットからはそれぞれのサンプルに特徴的な成分を視覚的に確認することができた。

Overlaid chromatograms (honjozo-sake, ginjo-sake)

Volcano Plot (honjozo-sake, ginjo-sake)



Peak list *Details are shown in Table2

Figure 4 Difference analysis result between honjozo-sake and ginjo-sake

Table 2にピークリストを示す。背景色はサンプル間の強度差を反映している。ID018はNISTデータベース未登録の物質であったが、AI構造解析により化合物名と構造式を導出することができた。

Table 2 Peak list of difference analysis result

(blue : strong in honjozo-sake, red : strong in ginjo-sake, white : almost same intensity)

General				Variance Component Analysis Results			Total Result											
ID	RT [min]	RI [iu]	Height [%]	Class	Log2(B/A)	p-value	Compound Name	CAS# / PubChem CID	Lib.	Similarity ΔRI / AI Score	Formula	DBE	Adduct/Loss	Calculated m/z	Mass Error [mDa]	Isotope Matching	EI Fragment Coverage	
001	2.90	870	0.76	A > B	-1.38	0.000	Ethyl Acetate	141-78-6	mainlib	882	17	C4 H8 O2	1.0	none	88.05188	0.54	N/A	100
002	3.47	928	56.85	A = B	0.09	0.540	Ethanol	64-17-5	mainlib	954	4	C2 H6 O	0.0	none	46.04132	0.27	0.89	100
003	4.82	1033	0.30	A = B	-0.95	0.000	Butanoic acid, ethyl ester	105-54-4	mainlib	887	3	C6 H12 O2	1.0	none	116.08318	0.78	N/A	100
004	6.14	1122	18.87	A > B	-3.16	0.002	1-Butanol, 3-methyl-, acetate	123-92-2	mainlib	911	1	C7 H14 O2	1.0	none	130.09883	0.55	0.94	100
005	7.46	1209	14.37	A > B	-1.79	0.000	1-Butanol, 3-methyl-	123-51-3	mainlib	961	0	C5 H12 O	0.0	none	88.08827	0.59	0.86	100
006	7.87	1237	100.00	A < B	3.70	0.000	Hexanoic acid, ethyl ester	123-66-0	mainlib	950	8	C8 H16 O2	1.0	none	144.11448	0.58	0.99	100
007	8.73	1294	0.13	B Only	> 4	0.071	Tridecane	629-50-5	mainlib	807	6	C13 H28	0.0	-	-	-	-	89
008	9.49	1348	0.13	A Only	< -4	0.002	Propanoic acid, 2-hydroxy-, ethyl ester	97-64-3	mainlib	919	1	C5 H10 O3	1.0	none	118.06245	0.68	0.93	100
009	10.16	1396	0.20	A < B	2.12	0.042	Tetradecane	629-59-4	mainlib	834	5	C14 H30	0.0	none	198.23420	0.51	N/A	100
010	10.72	1438	6.58	A < B	1.94	0.000	Octanoic acid, ethyl ester	106-32-1	mainlib	948	3	C10 H20 O2	1.0	none	172.14578	0.54	0.96	100
011	11.23	1476	0.10	A Only	< -4	0.006	Furfural	98-01-1	mainlib	907	16	C5 H4 O2	4.0	none	96.02058	0.61	0.80	100
012	11.49	1495	0.26	A < B	1.77	0.045	Pentadecane	629-62-9	mainlib	865	5	C15 H32	0.0	none	212.24985	0.93	N/A	100
013	12.05	1540	0.99	A < B	1.02	0.005	Benzaldehyde	100-52-7	mainlib	922	19	C7 H6 O	5.0	none	106.04132	0.49	0.93	100
014	12.09	1543	0.21	B Only	> 4	0.009	2,3-Butanediol, [S-(R*,R*)]-	19132-06-0	mainlib	931	22	C4 H10 O2	0.0	none	90.06753	0.43	0.90	100
015	12.74	1595	0.20	A < B	1.50	0.030	Hexadecane	544-76-3	mainlib	808	5	C16 H34	0.0	none	226.26550	0.59	N/A	90
016	13.39	1649	0.11	A = B	-0.44	0.237	Butyrolactone	96-48-0	mainlib	838	17	C4 H6 O2	2.0	none	86.03623	0.48	0.93	100
017	13.93	1694	0.13	A < B	1.45	0.032	Heptadecane	629-78-7	mainlib	756	6	C17 H36	0.0	none	240.28115	1.72	N/A	100
018	15.23	1808	0.36	A = B	0.60	0.138	ethyl 4-hydroxybutanoate	357772	AI	831	-	C6 H12 O3	1.0	none	132.07810	0.52	0.92	100
019	15.45	1828	2.59	A = B	-0.58	0.010	Acetic acid, 2-phenylethyl ester	103-45-7	mainlib	949	15	C10 H12 O2	5.0	none	164.08318	1.55	0.91	100
020	15.67	1848	12.95	A < B	3.51	0.001	Hexanoic acid	142-62-1	mainlib	924	2	C6 H12 O2	1.0	none	116.08318	0.32	0.59	100
021	16.47	1923	18.82	A = B	0.05	0.762	Phenylethyl Alcohol	60-12-8	mainlib	964	16	C8 H10 O	4.0	none	122.07262	0.58	0.96	100
022	17.87	2059	3.00	A < B	2.37	0.003	Octanoic acid	124-07-2	mainlib	972	0	C8 H16 O2	1.0	none	144.11448	0.34	0.92	100

この資料に掲載した商品は、外国為替及び外国貿易法の安全輸出管理の規制品に該当する場合がありますので、輸出するとき、または日本国外に持ち出すときは当社までお問い合わせください。

Figure 5にID018のAI構造解析により得られた構造式候補を示す。キャラメル様の香りを持つethyl 4-hydroxybutanoateが上位候補(2位/1155候補)として得られた。

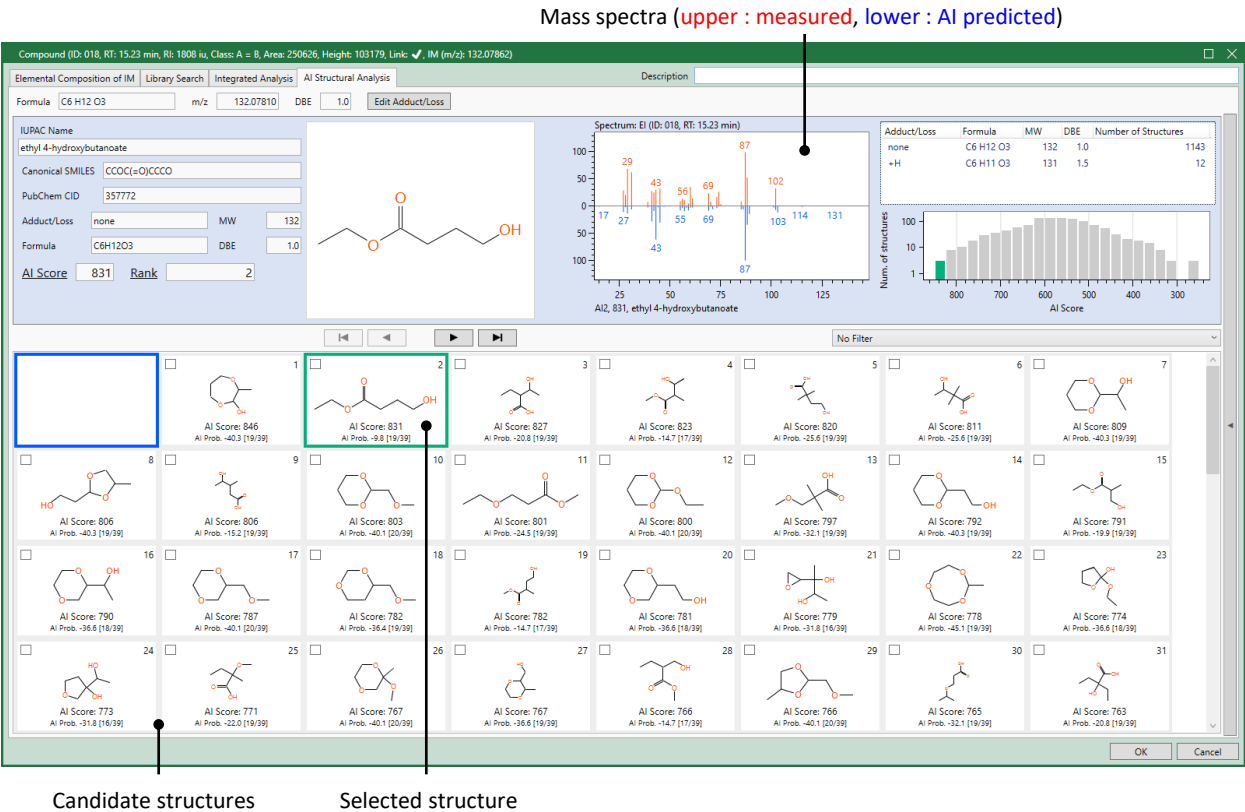


Figure 5 AI structure analysis result of peak ID018

まとめ

HT2850TとJMS-T20000GCを用いたHS-SPME-GC-TOFMSにより日本酒中の香り成分を感度良く検出することができた。msFineAnalysis AIのボルケーノプロットでは各サンプルの特徴的な成分を視覚的に確認することができた。検出されたピークにはNISTデータベース未登録物質もあったが、AI構造解析により化合物名と構造式を導出することができた。これらの装置とソフトウェアが食品中の香り成分分析に有効であることが確認できた。