

1260 Infinity II Prime LC システムを用いた 醤油中のアミノ酸の定量分析および Mass Profiler Professional による統計解析



著者

林 慶子
城代 航
林 明生

アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

近年食品中の成分のオミックス分析が注目を集めています。多成分を網羅的に分析したり、成分変動を追うことによる食品と栄養の研究のために、複数の手法を組み合わせたり多数のデータを統計解析するニーズの高まりが予想されます。

食品中の成分の1つであるアミノ酸類は食品中では高濃度に含有する成分と低濃度の成分とで濃度差が大きく、定量分析を行うためには広いダイナミックレンジを要求されるため、本アプリケーションノートでは OPA および FMOC で誘導体化しアミノ酸を分析しました。

得られた定量値をエクセル出力し、統計解析ソフトウェア Mass Profiler Professional にて主成分分析 (PCA : Principal Components Analysis) および階層クラスタリング分析を実行しました。その結果、醤油の種類や製造元による違いを可視化することが可能でした。

システム

Agilent InfinityLab LC System
G7104C：フレキシブルポンプ
G7167A：マルチサンプラ
G7116B：マルチカラムサーモスタット
G7121B：蛍光検出器
OpenLab CDS 2.6 ソフトウェア（データ採取と解析）
Mass Profiler Professional ソフトウェア（統計解析）

試料調製

1 nmol/μL の AA standard、Amino acids supplement kit および GABA（関東化学製）は 0.1 N HCl で溶解し希釈して標準試料としました。ターゲットのアミノ酸は GABA を含む 21 成分とし、ノルバリンおよびサルコシン（Amino acids supplement kit に含有）を内標準物質として使用しました。内標準物質は最終濃度 100 pmol/μl となるように試料に添加し分析を行いました。実試料には表 1 に示す市販の醤油 5 種を 10000 倍希釈したものを使用しました。

表 1. 実試料として使用した醤油のタイプ

醤油	製造元	タイプ
①	メーカー A	薄口
②	メーカー B	薄口
③	メーカー B	濃口
④	メーカー B	減塩
⑤	メーカー C	濃口

分析条件

アプリケーションノート 5991-7694EN および LC-201812TB-001 を参考に分析を実施しました。

結果

5 種類の醤油試料を各 3 回測定したクロマトグラムの重ね書きを図 1 に示しました。各アミノ酸ピークは 5 種類すべてで定量レンジ内の強度で観測されました。15 個のデータは OpenLab 2.6 を使用してピーク同定および定量値算出を行い、インテリジェントレポートを活用して、定量結果はエクセルに出力しました。インテリジェントレポートはユーザーがレポート項目をカスタマイズして、必要なデータを希望するデータフォーマットで出力する機能です。今回は 15 回の測定で検出された各化合物の定量値をシーケンスサマリーとしてエクセルに出力しました。

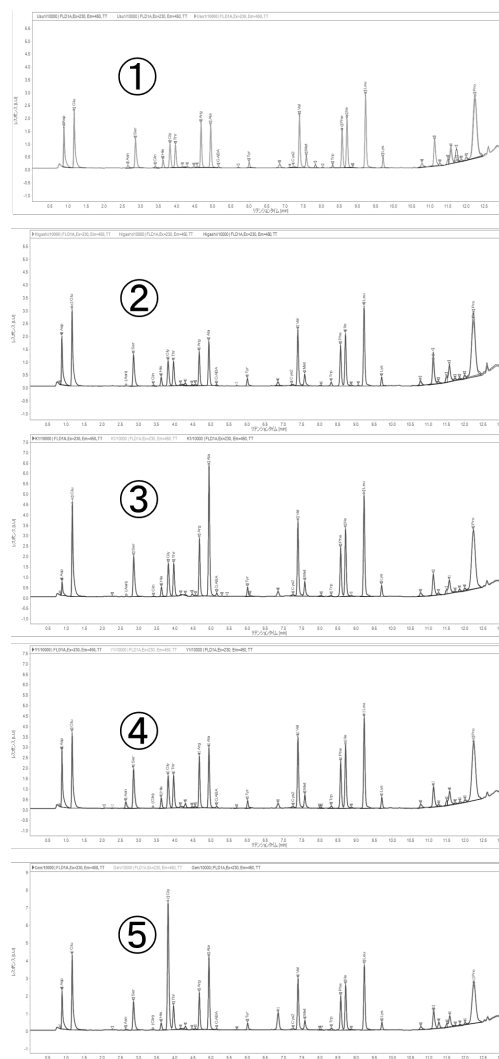


図 1. 5 種類の実試料の各 3 回繰り返し分析のクロマトグラム重ね書き

エクセルファイルを統計解析ソフトウェア Mass Profiler Professional に読み込み、主成分分析 (PCA) を行いました。その結果を図 2 に示しました。第一主成分 (横軸: 寄与率 67.89%) の負方向に薄口醤油がプロットされ、正方向に濃口醤油および減塩醤油がプロットされました。薄口醤油と濃口醤油が最大の寄与率で分類される結果が得られました。第二主成分 (縦軸: 寄与率 15.63%) の正方向にメーカー B、負方向には

メーカー C がプロットされたことから、濃口醤油においてもメーカー間の原料や製法の違いが第二主成分上で分類される得られたと考えられます。第一主成分と第二主成分で 83.52% の寄与率となり、5 種類の醤油の違いを十分解釈できる結果が得られました。

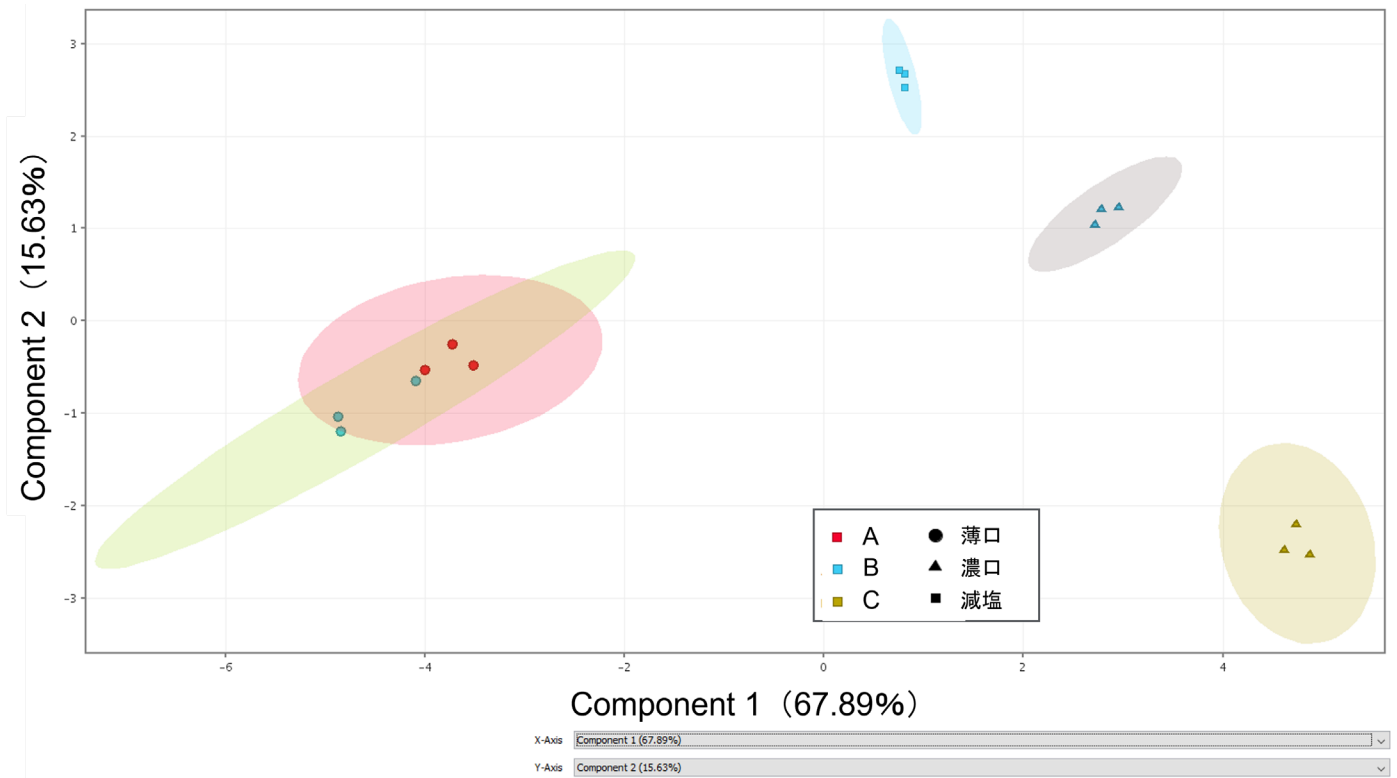


図 2. PCA スコアプロット

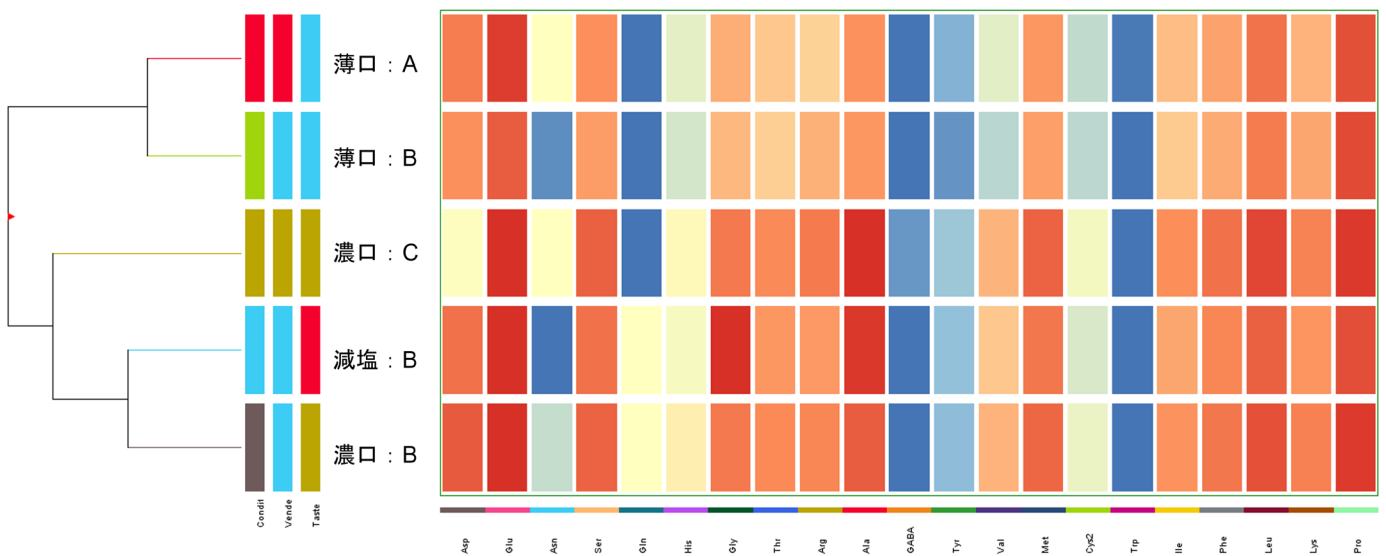


図 3. 階層型クラスタ分析のデンドログラムおよび各アミノ酸の定量値を示したヒートマップ

図 3 に階層型クラスタ分析のデンドログラムおよび各アミノ酸の定量値を色で示したヒートマップを示しました。図 2 で得られた薄口醤油と濃口醤油の分類および、濃口醤油と減塩醤油におけるメーカー間の分類を明確に可視化することが可能でした。定量値はヒートプロットにより可視化され共通して観測される成分や特徴的な成分を考察することが容易になります。

まとめ

5 種類の醤油中のアミノ酸を OPA および FMOC プレカラム誘導体化 FLD 検出法により定量し、主成分分析および階層型クラスタ分析により分類しました。

OpenLab ソフトウェアを使用することでピークの同定や定量および任意の形式へのカスタムレポート出力ができ、統計解析ソフトウェアへの円滑なデータ転送を可能にします。本アプリケーションノートでは 15 回の注入の定量値をシーケンスサマリーとしてエクセルファイルに出力し、統計解析ソフトウェア Mass Profiler Professional にインポートしました。その結果、醤油の製法やメーカー間の差異を明確に可視化することができました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE76573731

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, November 1, 2022

5994-5522JAJP