

LC-MSを用いた葉物野菜中の 主要な代謝物のスクリーニング

高橋洋武, 佐野勇気, 橘田 規, 照井善光
(一般財団法人日本食品検査)



一般財団法人 日本食品検査
Japan Food Inspection Corporation

目的

● 食物のエネルギー量や各種栄養素の含有量は、食品成分表等に詳細に掲載されているが、全ての成分が明らかになっているわけではない。そこで、未知の代謝物等をスクリーニングするために、Q Exactive Focusで網羅的に取得したデータを用いて、葉物野菜中の主要代謝物の化合物推定が可能を検討した。

対象サンプル

● 以下の12種類の葉物野菜を使用した。



前処理方法

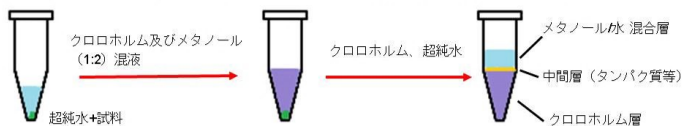
【試料調製】

ドライアイスを用いた凍結粉砕法によって、サンプルを均一化した。



【測定溶液調製】

Bligh & Dyer Methodを用いた。メタノール/水混合層を測定溶液とした。



分析方法

【分析条件：LC条件】

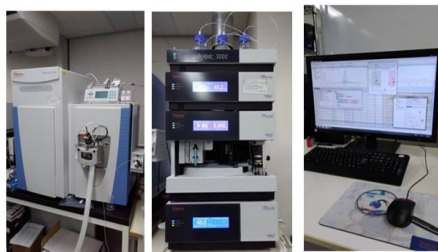
装置：UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific製)
分析カラム：Discovery HS F5-3 (Merck製)
(2.1 mm I.D. × 150 mm, 3 μm)
移動相：強溶媒：0.1 vol% 硝酸含有アセトリル、
弱溶媒：0.1 vol% 硝酸

【解析ソフト】

● Compound Discoverer 2.1
(Thermo Fisher Scientific製)

【分析条件：MS条件】

装置：Q Exactive Focus
(Thermo Fisher Scientific製)
イオン化：ESI, pos及びneg
測定モード：Full MS及びddMS²
MS範囲： m/z 70~1050
分解能：70,000 (m/z 200)



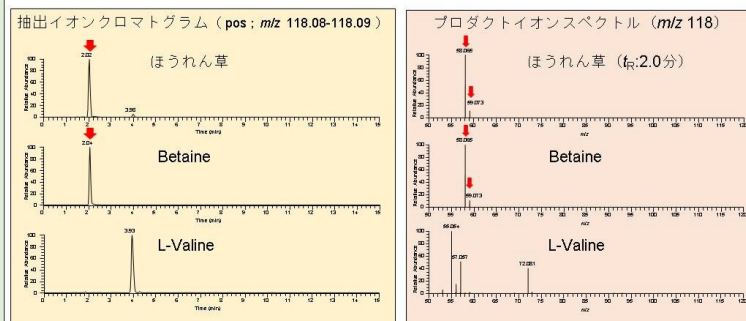
データ解析結果

● Compound Discoverer 2.1にて、葉物野菜12種類のデータをアライメントし、面積値の大きい2代謝物について化合物推定を行った。

名称	保持時間 (分)	推定精密質量	多く含まれる野菜
代謝物A	2.0	117.079	ほうれん草
代謝物B	1.8	129.042	小松菜、キャベツ

代謝物Aの化合物推定

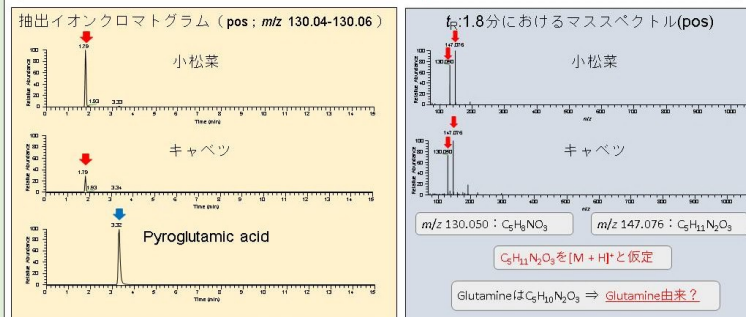
代謝物DatabaseでBetaineとL-Valineがヒット → BetaineとL-Valineの標準品を測定



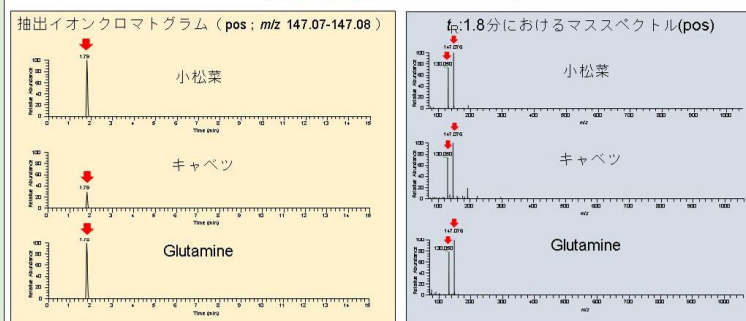
代謝物AはBetaineと推定された。

代謝物Bの化合物推定

代謝物DatabaseでPyroglutamic acidがヒット → Pyroglutamic acidの標準品を測定



Glutamineの標準品を測定



代謝物BはGlutamineと推定された。

まとめ

● 葉物野菜12種類を高分解能MSを用いて、網羅的にデータを取得し、ほうれん草、小松菜及びキャベツの主要な代謝物の化合物を推定することができた。
● 今回は葉物野菜を対象にしたが、対象サンプルを拡張して検討していきたい。また、主要な代謝物だけでなく、機能性成分等のサンプル特有の化合物等の探索に本手法を応用できるか検討していきたい。