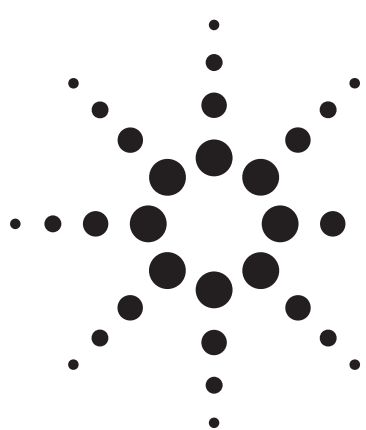


エレクトロスプレーおよび 大気圧化学イオン化LC/MSによる 天然食品色素の分析



アプリケーション

食品

著者

滝埜 昌彦
アジレント・テクノロジー株式会社

要旨

赤キャベツ、モナスカス、パプリカ、ラックといった一般に使用されている天然色素を、ESIとAPCI-LC/MSにより分析しました。MSデータにより、各色素の分子量情報と一部の主成分の構造情報が得られました。

はじめに

飲料、ゼリー、キャンディには多くの種類の天然色素が使用されています。多くの国では、最近の食品規制の見直しにより、天然色素にも合成着色料と同様の規制が適用されるようになっています。

そのため、食品に含まれる各種の天然色素を確実に分析できるメソッドを開発する必要性が生じています。本研究では、エレクトロスプレーイオン化 (ESI) および大気圧化学イオン化 (APIC) を用いたLC/MSメソッドを開発し、赤キャベツ、パプリカ、モナスカス、ラックという4種類の天然色素に含まれる主要成分を同定しました。

実験手法

パプリカ色素とモナスカス色素をアセトンに溶解し、他の色素はイオン交換水に溶解しました。各色素は0.2 μ mフィルタを用いてろ過しました。試料の10 μ Lをシステムに注入しました。システム構成は、Agilent 1100シリーズバイナリポンプ、カラム恒温槽、デガッサ、オートサンブラ、MSDです。

LC/MSDでは、ESIまたはAPCIイオン源のいずれかを使用しました。システム全体のコントロールとデータ処理には、LC/MS用Agilent ChemStationを使用しました。各サンプルに応じて操作条件を最適化しました。(ここで使用したLC/MSDは2000年当時の装置です。2008年現在では6000シリーズLC/MSシステムにより同等以上の測定が可能です。)

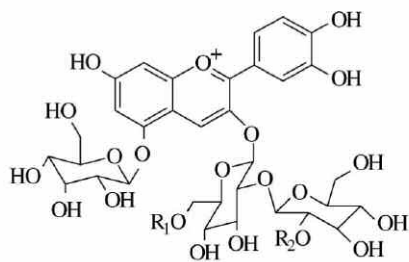
結果と考察

赤キャベツ色素

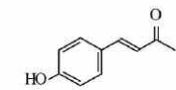
図1には、赤キャベツに含まれる7つの主要色素成分の構造を示しています。各色素成分は基本となるシアニジン3-ジグルコシド構造が共通しており、異なるR1およびR2基を持っています。図2には、赤キャベツ色素のトータルイオンクロマトグラム (TIC) と抽出イオンクロマトグラム (EIC) を示しています。移動相に10%ギ酸を使用すれば、すべての主要色素成分をLCで分離できますが、酸の濃度が高くなると感度が低下します。そのため、本研究では1%ギ酸を使用しました。EICは、主イオン (ベースピーク) をもとに各色素成分が分離されていることを示しています。



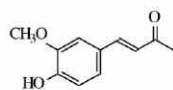
Agilent Technologies



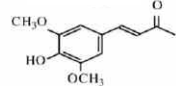
シアニジン3-ジグルコシド



シナビル



フェルリル



p-クマリル

	R ₁	R ₂	MW
A	H	シナビル	979
B	シナビル	H	979
C	フェルリル	H	949
D	p-クマリル	H	919
E	シナビル	シナビル	1185
F	フェルリル	シナビル	1155
G	p-クマリル	シナビル	1125

図1. 赤キャベツ色素に含まれる主要顔料の構造

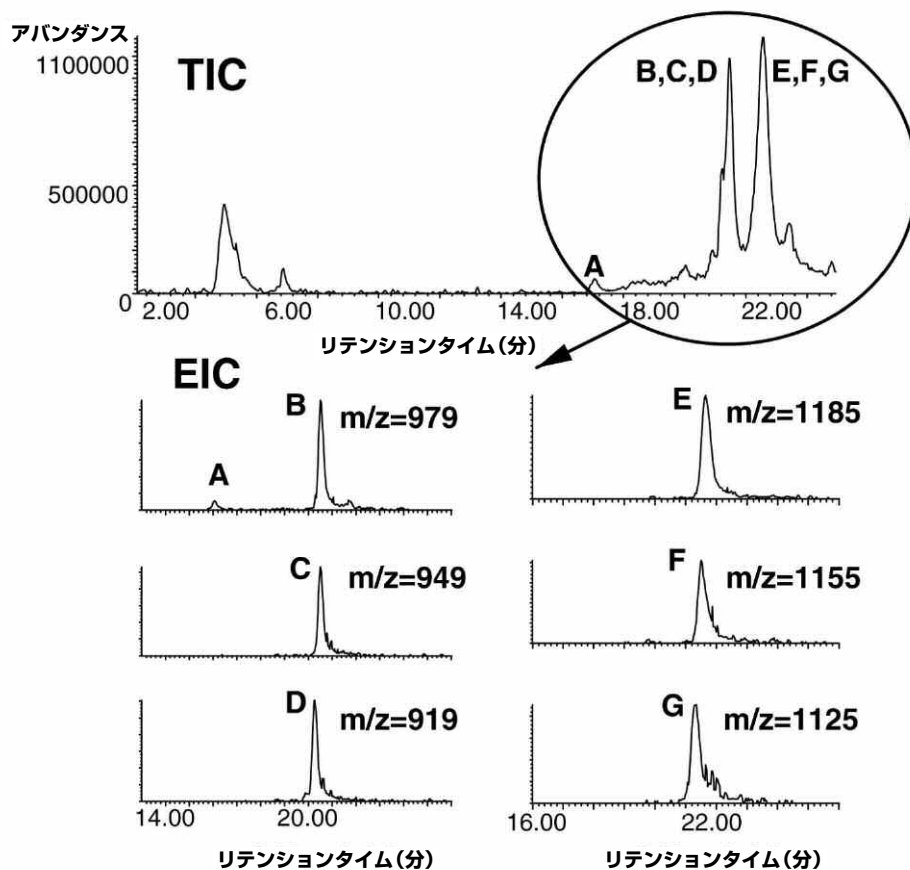


図2. 赤キャベツ色素のトータルイオンクロマトグラムと抽出イオンクロマトグラム

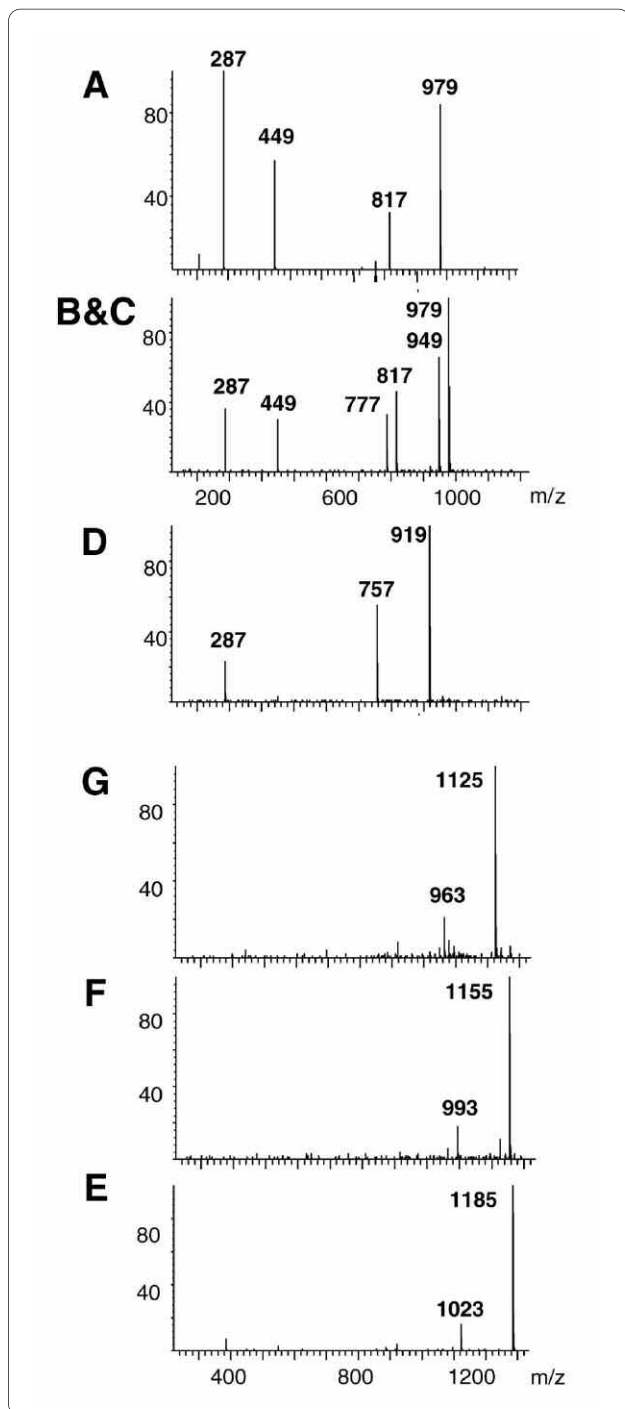


図3. 赤キャベツ色素の主要顔料の質量スペクトル

LC条件

カラム： Inertsil ODS3、250 mm×2.1 mm、5μm
 移動相： A = 1%ギ酸
 B = アセトニトリル
 グラジエント： 5%Bで開始
 30分で50%B
 流速： 0.2 mL/min
 カラム温度： 40°C
 注入量： 10μL

MS条件

イオン源： ESI
 イオンモード： 正イオン
 V_{cap} 電圧： 4000 V
 ネブライザ： 50 psig
 乾燥ガス流量： 10 L/min
 乾燥ガス温度： 350°C
 コロナ： 4μA
 気化器温度： 350°C
 スキャン範囲： 100–1200 u
 ステップサイズ： 0.1u
 ピーク幅： 0.15分
 タイムフィルター： オン
 フラグメンター： 200 V

図3には、赤キャベツ色素に含まれる7種類の主要色素成分の質量スペクトルを示しています。これらの色素では、シアニジン基中酸素が正電荷を帯びているため、一般的に観察される $[M+H]^+$ イオンではなく、分子イオンが観察されました。イオン源内衝突誘導解離(CID)を利用すれば、フラグメントイオンを生成して、構造確認をおこなうことができます。CIDを用いた場合、各色素成分の質量スペクトルでは、グルコースの脱離に対応する一般的なフラグメントのほか、シアニジン(m/z 287)およびシアニジン3-ジグルコシド(m/z 449)イオンが観察されました。

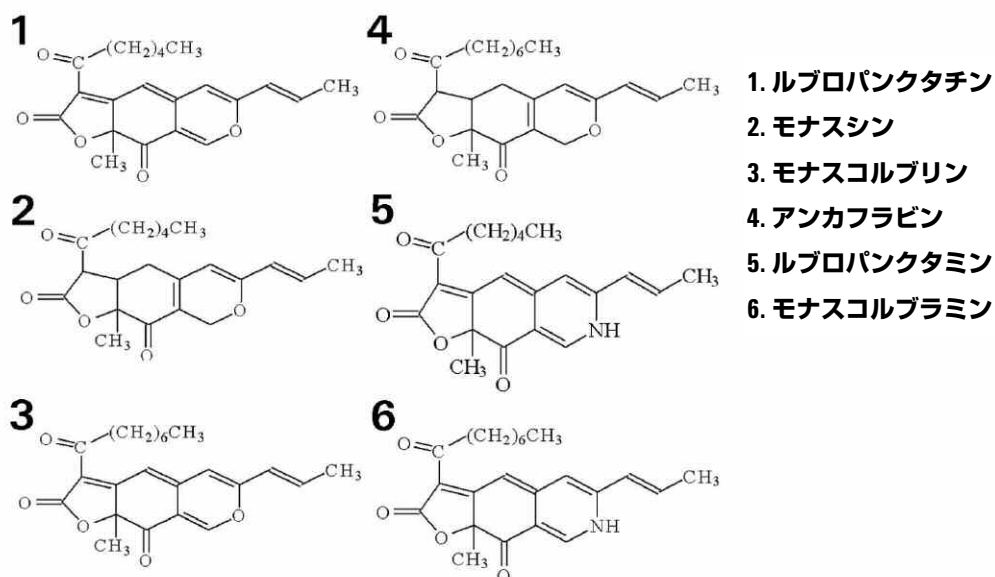


図4. モナスカス色素の主要顔料

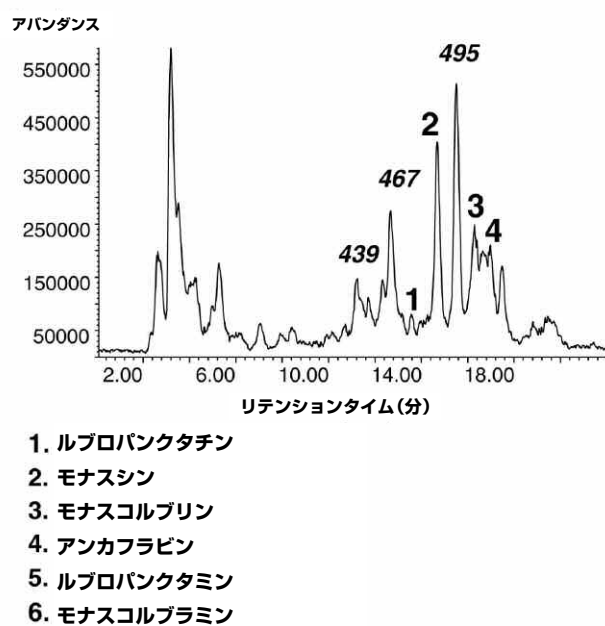


図5. モナスカス色素のトータルイオンクロマトグラム

LC条件

カラム: Inertsil ODS3, 250 mm×2.1 mm, 5μm
 移動相: A = 1%ギ酸
 B = アセトニトリル
 グラジエント: 50%Bで開始
 10分で90%B
 流速: 0.2 mL/min
 カラム温度: 40°C
 注入量: 10μL

MS条件

イオン源: ESI
 イオンモード: 正イオン
 V_{cap} 電圧: 4000 V
 ネブライザ: 50 psig
 乾燥ガス流量: 10 L/min
 乾燥ガス温度: 350°C
 コロナ: 4μA
 気化器温度: 350°C
 スキャン範囲: 100–1200 u
 ステップサイズ: 0.1u
 ピーク幅: 0.15分
 タイムフィルター: オン
 フラグメンター: 100 V

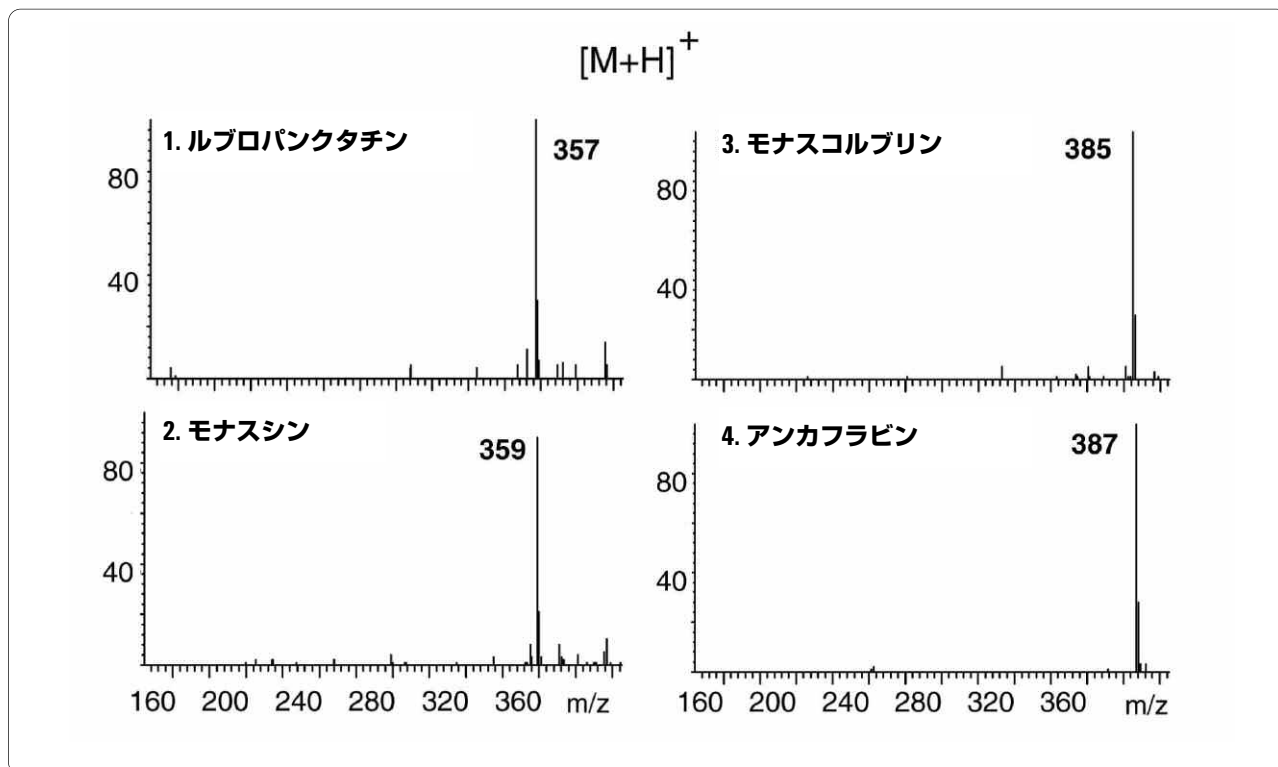


図6. モナスカス色素の主要顔料の質量スペクトル

モナスカス色素

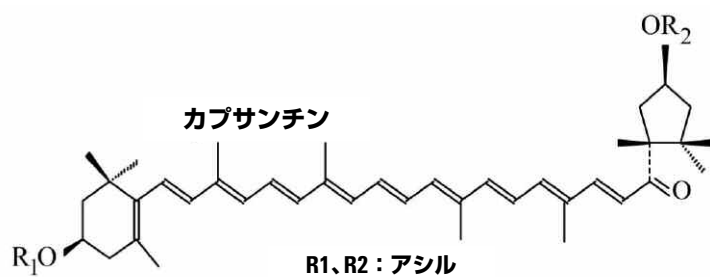
モナスカスは6種類の主要色素成分を含んでいます。各色素成分の構造を図4に示しています。TICの主要ピークの質量スペクトルから、4種類の色素が同定されました(図5参照)。

ベースピークが m/z 439、467、495である3つの主要ピークは同定されませんでした。図6には、同定された色素成分の質量スペクトルを示しています。同定された4つの色素成分では、プロトン化分子イオン $[M+H]^+$ が観察されました。

パブリカ色素

パブリカ色素の主要色素成分としては、カプサンチンとカプサンチンの脂肪酸モノエステルおよびジエステルが知られています(図7参照)。本研究で分析したパブリカ色素では、カプサンチンの2つのモノエステルと5つのジエステルが同定されました(図8参照)。

すべての主要色素成分で、プロトン化分子イオン $[M+H]^+$ が観察されました(図9参照)。ただし、イオン強度がきわめて低いカプサンチンモノエイコサノアートは除きます。カプサンチンモノエイコサノアートを除く色素成分では、1つまたは2つの脂肪酸フラグメントの脱離によるフラグメントイオンが観察されました。各色素成分の質量スペクトルでは、 m/z =567の共通フラグメントイオンが観察されました。



1. モノミリステート
2. モノエイコサノアート
3. ジラウレート
4. ラウリルミリステート
5. ジミリステート
6. ミリスチルパルミテート
7. ジパルミテート

図7. パプリカ色素の主要顔料の構造

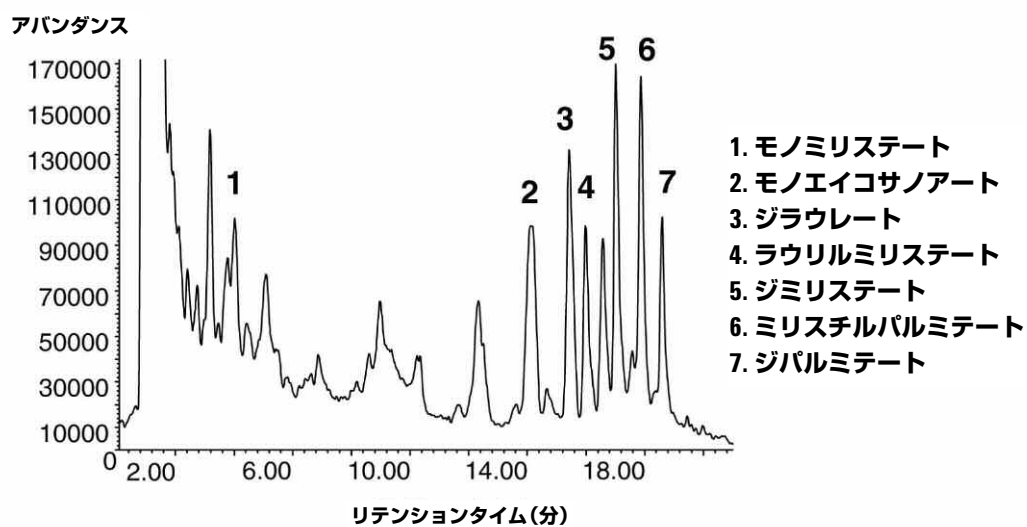


図8. パプリカ色素のトータルイオンクロマトグラム

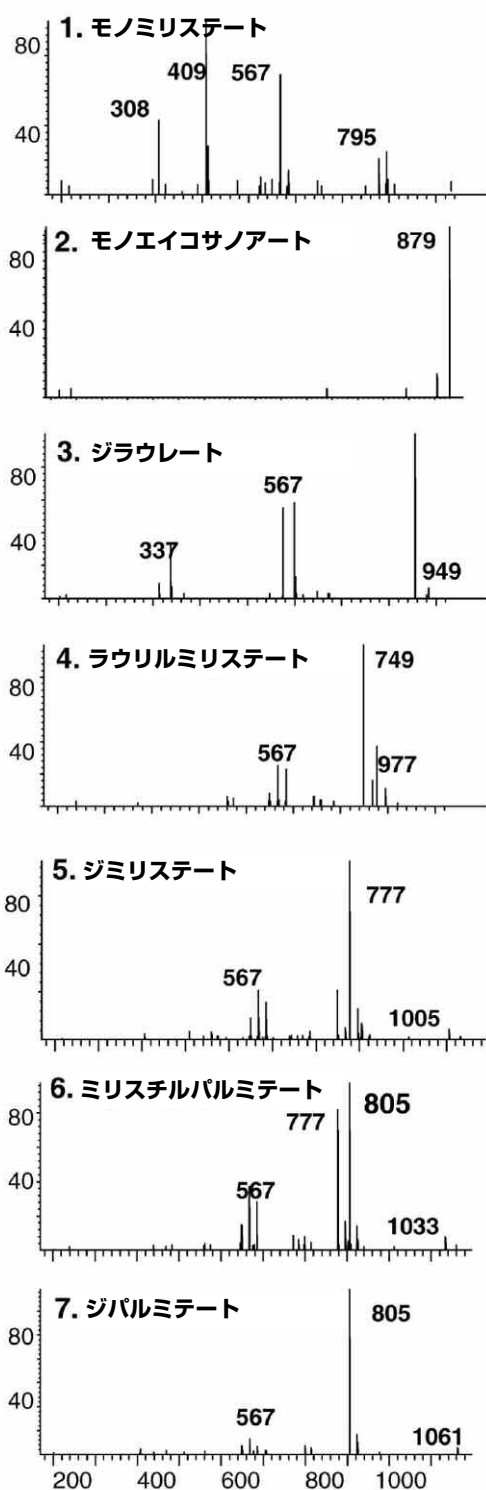


図9. パプリカ色素の主要顔料の質量スペクトル

LC条件

カラム： Inertsil ODS3, 250 mm×2.1 mm, 5μm
 移動相： A = アセトン
 B = メタノール
 グラジエント： 10%Bで開始
 10分で90%B
 流速： 0.2 mL/min
 カラム温度： 40°C
 注入量： 10μL

MS条件

イオン源： APCI
 イオンモード： 正イオン
 Vcap電圧： 4000 V
 ネブライザ： 50 psig
 乾燥ガス流量： 5 L/min
 乾燥ガス温度： 350°C
 コロナ： 4μA
 気化器温度： 350°C
 スキャン範囲： 100–1200 u
 ステップサイズ： 0.1u
 ピーク幅： 0.15分
 タイムフィルター： オン

ラック色素

図10には、ラック色素に含まれる主要色素成分の構造を示しています。ラック色素の主要色素成分としては、ラッカイン酸A、B、Cが知られています。これらの化合物は、基本となるアントラキノン構造が共通していますが、異なるR基を持っています。TICでは、3つの主要ピークが検出されました(図11参照)。ラッカイン酸A、B、Cが同定されましたが、AとBは分離できませんでした。

図12には、ラッカイン酸Cのピークとラッカイン酸AおよびBの混合ピークの質量スペクトルを示しています。脱プロトン化分子イオンが $m/z = 495, 536, 538$ で観察されました。二酸化炭素の脱離により生じたフラグメントイオンが m/z 451、492、494で観察されました。

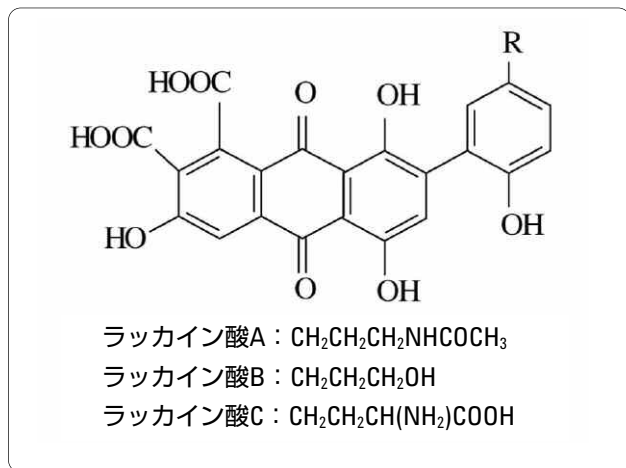


図10. ラック色素の主要顔料の構造

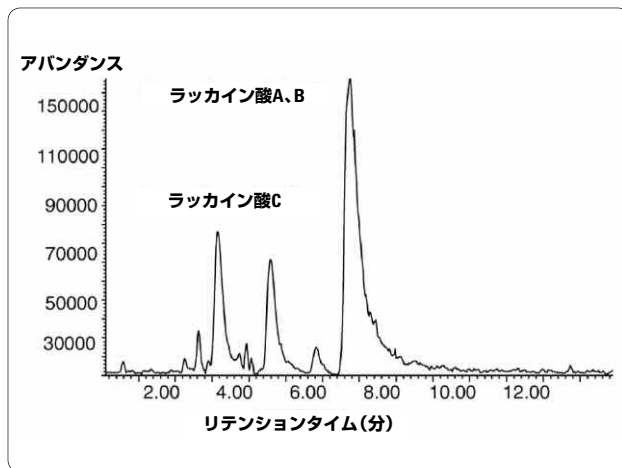


図11. ラック色素のトータルイオンクロマトグラム

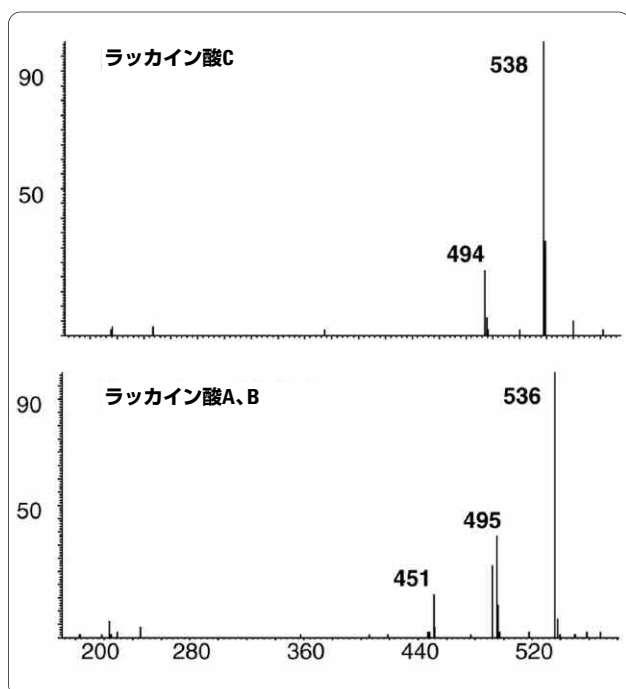


図12. ラック色素の主要顔料の質量スペクトル

結論

ESIおよびAPCI-LC/MSにより、一般的な4種類の天然色素を分析しました。MSデータにより、各色素の分子量情報が得られました。いくつかの主要色素成分では、構造情報も得られました。(本資料は2000年にオリジナル版が発行されました。使用装置のLC/MSDは現在では販売されていませんが、6000シリーズLC/MSシステムにより同等以上の測定が可能です。)

LC条件

カラム: Inertsil ODS3, 250 mm×2.1 mm, 5μm
 移動相: 30%アセトニトリルを含む
 5 mMジブチルアミン、アイソクラティック
 流速: 0.2 mL/min
 カラム温度: 40°C
 注入量: 10μL

MS条件

イオン源: ESI
 イオンモード: 負イオン
 V_{cap} 電圧: 4000 V
 ネブライザ: 50 psig
 乾燥ガス流量: 10 L/min
 乾燥ガス温度: 350°C
 スキャン範囲: 100–1200 u
 ステップサイズ: 0.1u
 ピーク幅: 0.15分
 タイムフィルター: オン
 フラグメンター: 100 V

詳細情報

アジレントの製品とサービスの詳細については、ウェブサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご覧ください。

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。また、本文書掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

本文書に記載の情報、説明、仕様等は、予告なく変更されることがあります。

© Agilent Technologies, Inc. 2008

Printed in Japan
 April 17, 2008
 5989-8442JAJP



Agilent Technologies