

JASIS 2021  
新技術説明会

オンライン固相誘導体化SPE-GC  
SPL-M100

**メタボロミクス革命！**

**精製と誘導体化を併せ持つ「固相誘導体化法」の紹介**

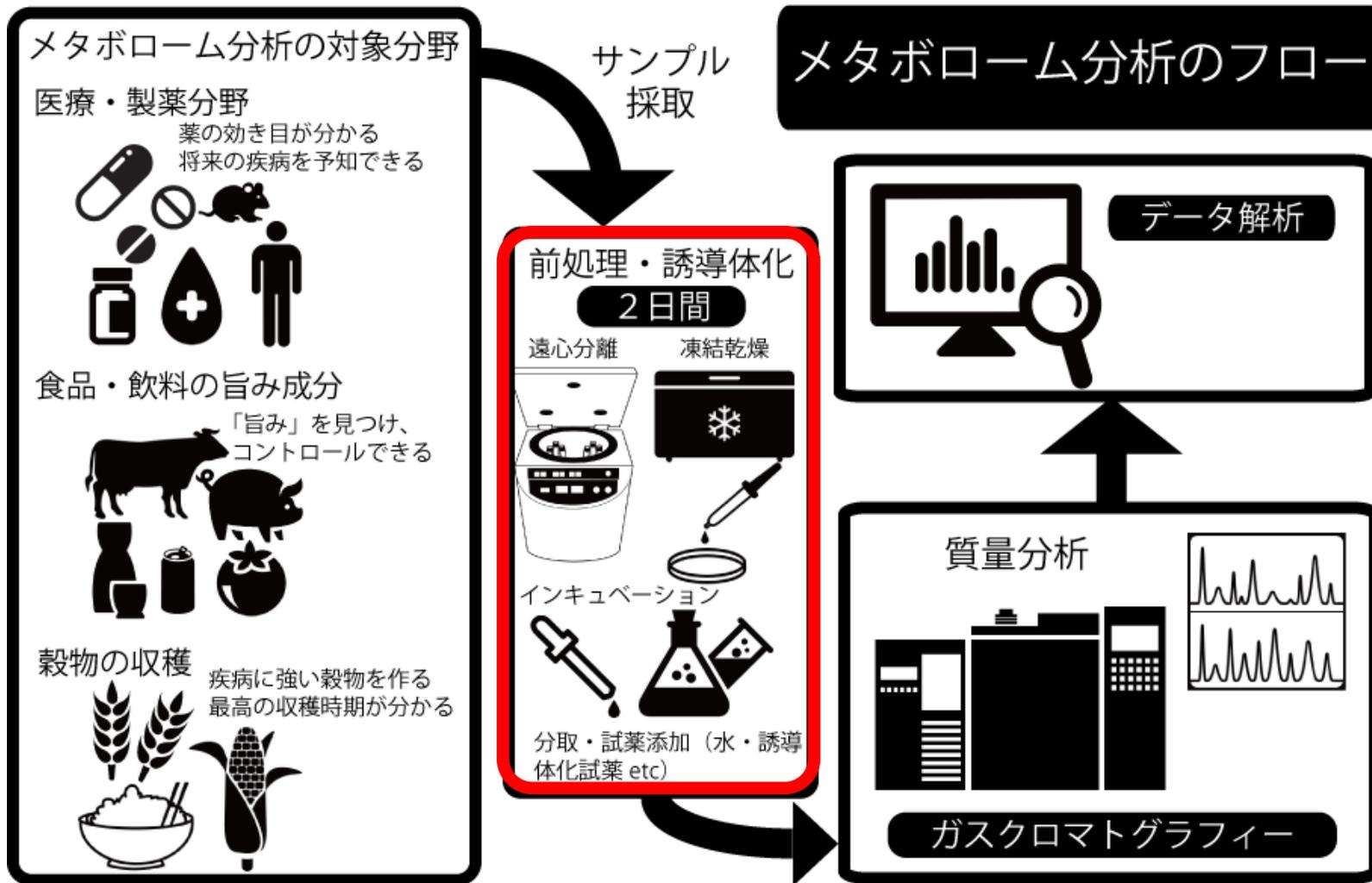


2021年11月09日  
株式会社アイスティサイエンス  
佐々野僚一

Beyond your Imagination

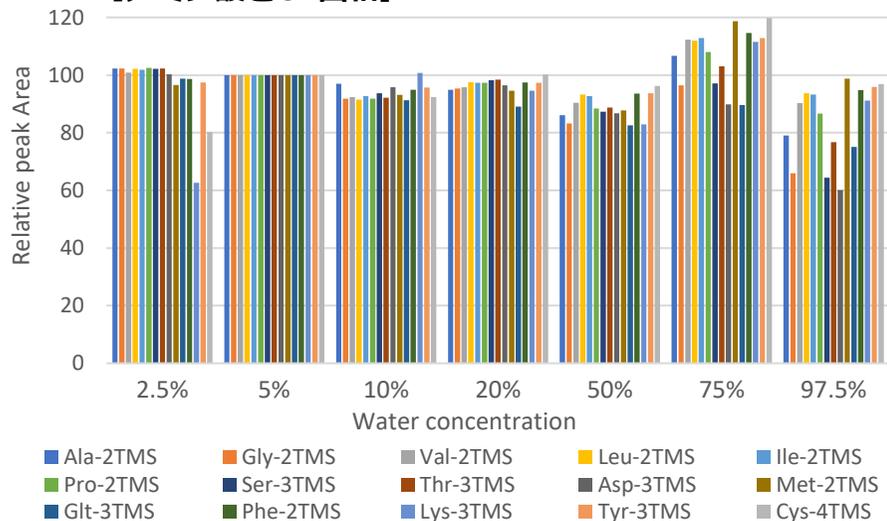
**AiSTI SCIENCE**

# メタボロミクスの現状

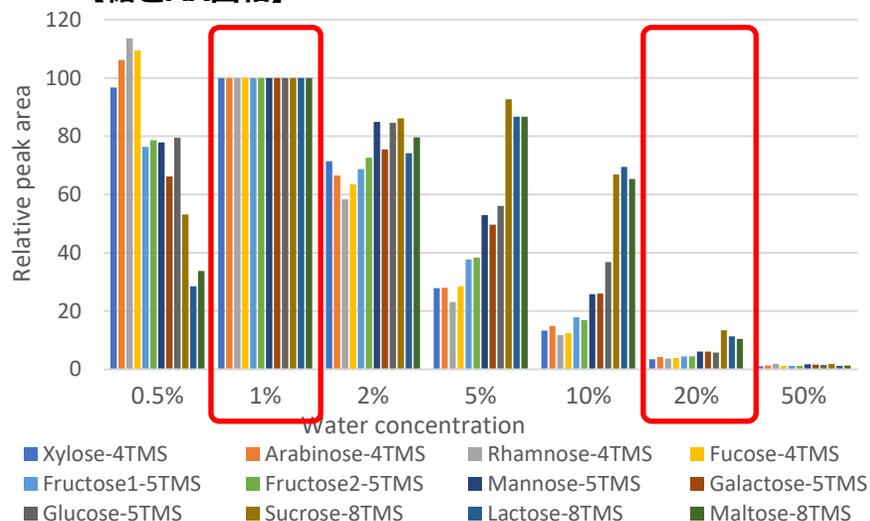


# 試料負荷時の水濃度と固相への保持について

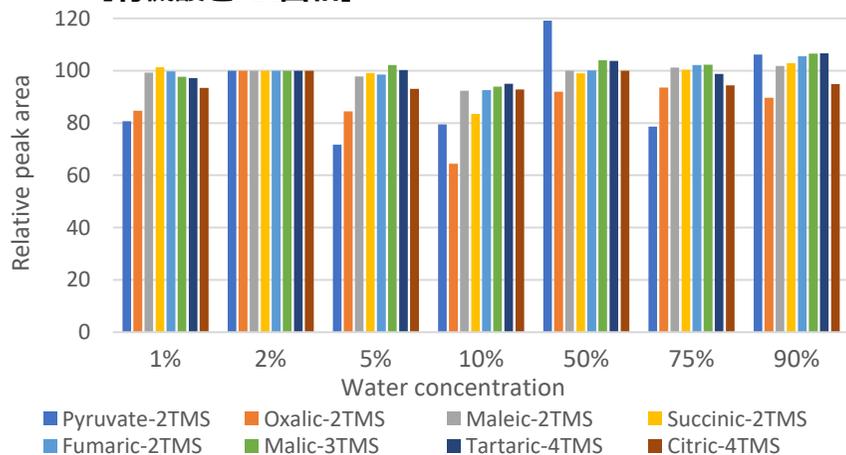
【アミノ酸とCX固相】



【糖とAX固相】

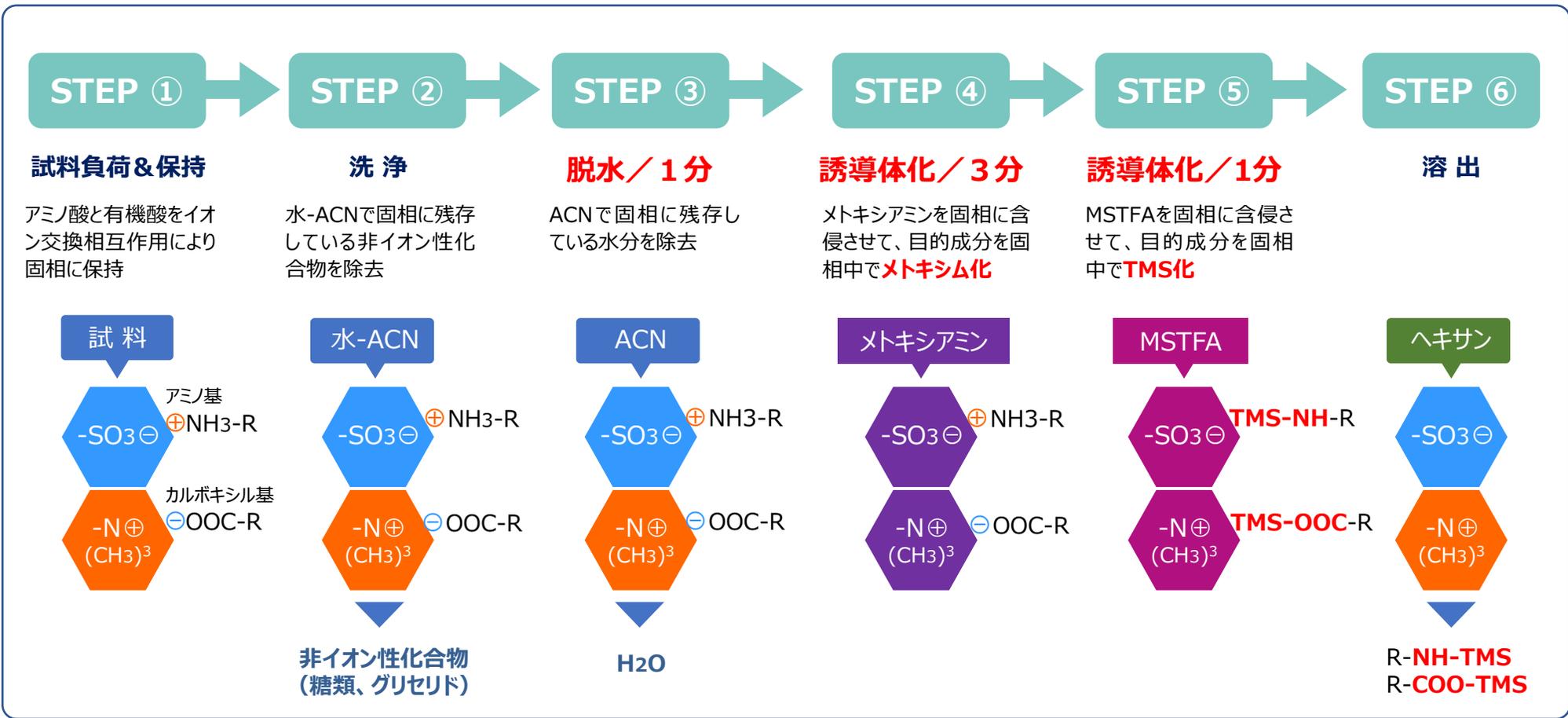


【有機酸とAX固相】



アミノ酸と有機酸は水濃度 (in ACN) に関係なく保持するが、糖類は水濃度が高くなるほど保持が弱くなる。

# 固相誘導体化法：アミノ酸/有機酸



特許登録：(株)アイスティサイエンス

# 従来法と本法の前処理比較

## ■ 従来法



## ■ 本法



20 時間



# SPE-GC-MS system



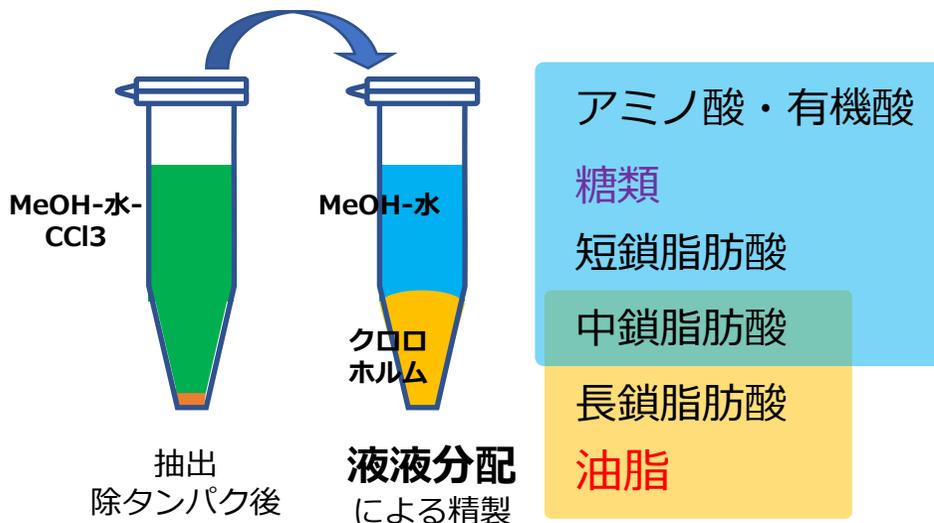
SPL-M100とアジレント社製GCMS



SPL-M100と島津社製GCMS

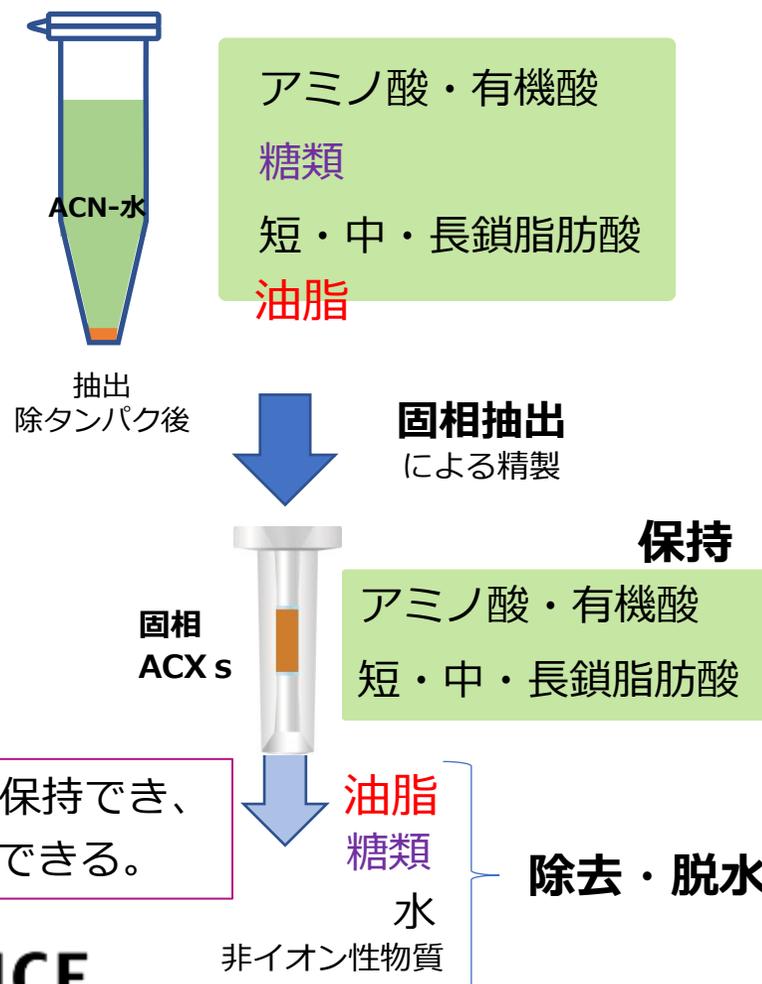
# 抽出と精製について

## メタノール-水-クロロホルム 抽出



- ❑ 中鎖脂肪酸が両方に分配してしまう。
- ❑ MeOH-水には糖類が残る。
- ❑ クロロホルムには油脂が残る。
- ❑ 短鎖脂肪酸は凍結乾固時に気化損失の恐れがある。

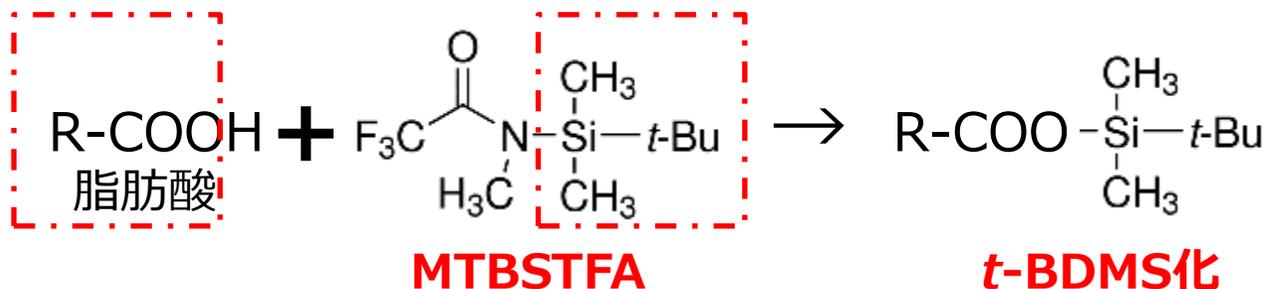
## アセトニトリル-水 抽出 (本法)



本法では目的物質を固相に保持でき、  
油脂や糖類そして水を除去できる。

# 短鎖脂肪酸の *t*-BDMS誘導體化

## ■ MTBSTFAによる *t*-BDMS誘導體化



*t*-BDMS化はTMS化より質量数が大きくなる。

TMS 誘導體は加水分解されやすいのに対し、*t*-BDMS 誘導體は加水分解に対し安定している。

## ■ 固相抽出技術

**脱水**：強イオン性固相に短鎖脂肪酸を吸着させてアセトニトリルを通液することで固相に残存している水分を取り除く。

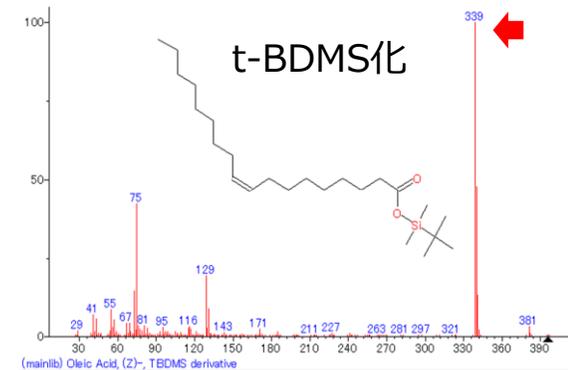
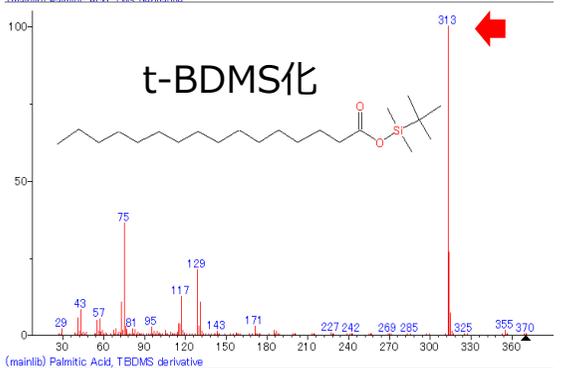
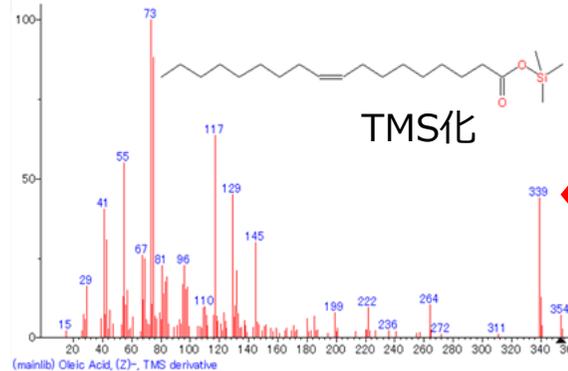
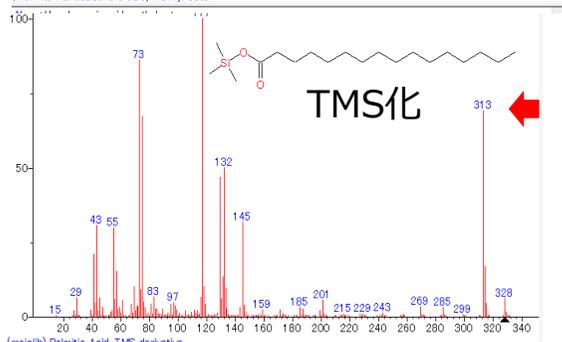
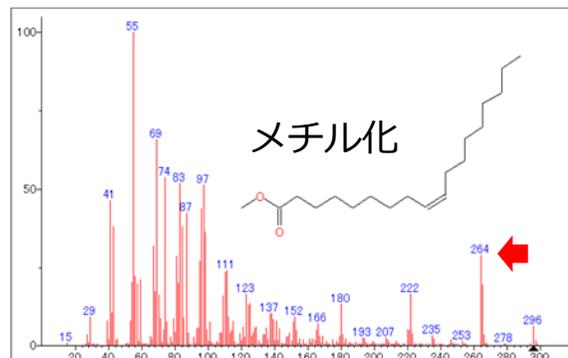
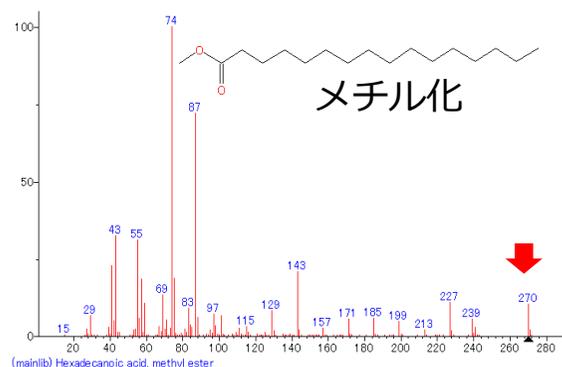
**固相誘導體化**：強イオン性固相に脂肪酸を吸着させた状態で誘導體化試薬をその固相に含浸させて、誘導體化。

# 長鎖脂肪酸のメチル化とTMS化とt-BDMS化

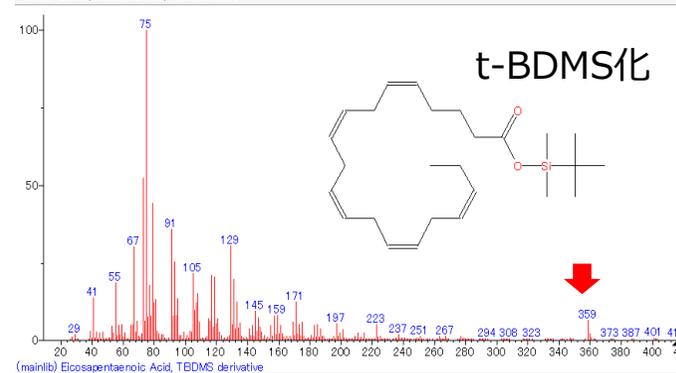
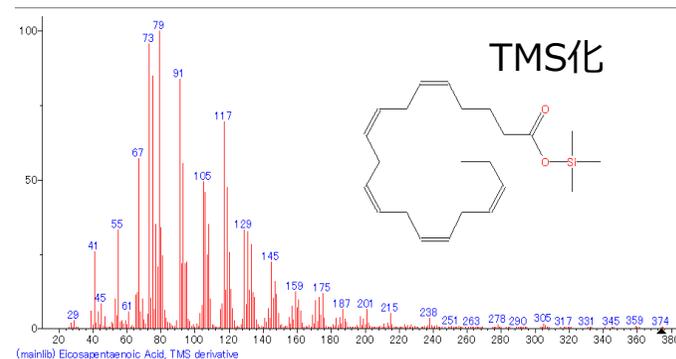
## パルミチン酸

## オレイン酸

メチル化よりTMS化やt-BDMS化の方が高質量域での強度の高いフラグメントイオンが検出される。

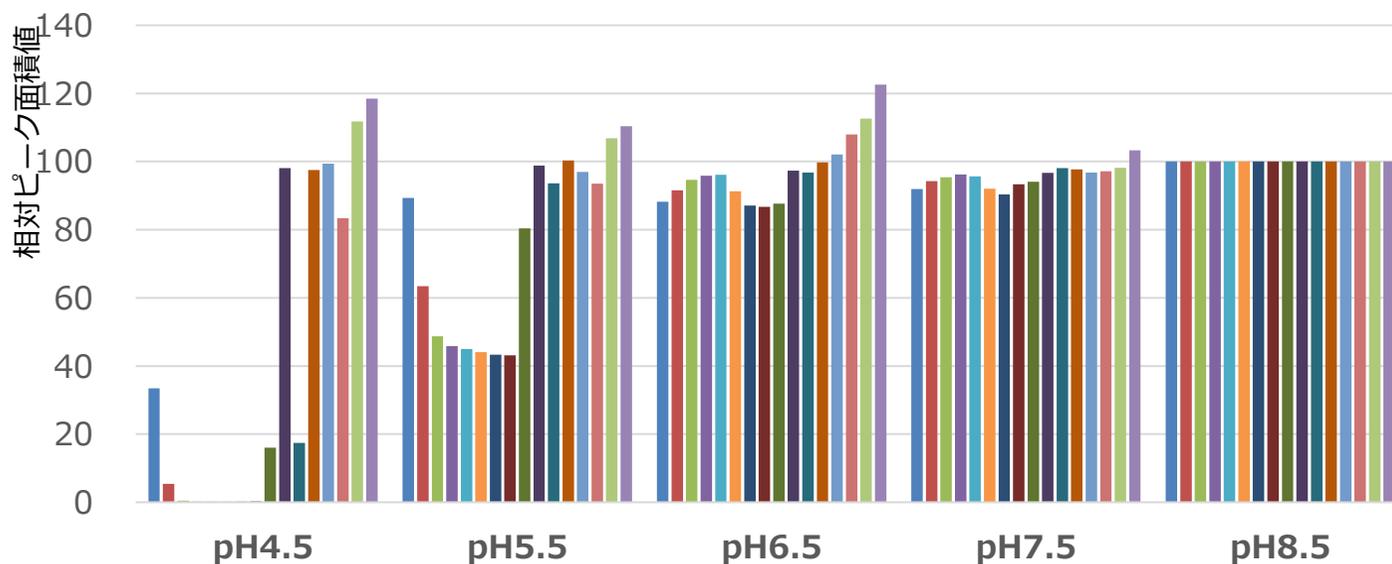


## EPA



# 抽出液のpH調整について

- 抽出液にNaOH水を添加してpHを8（7～9）ぐらいに調整する

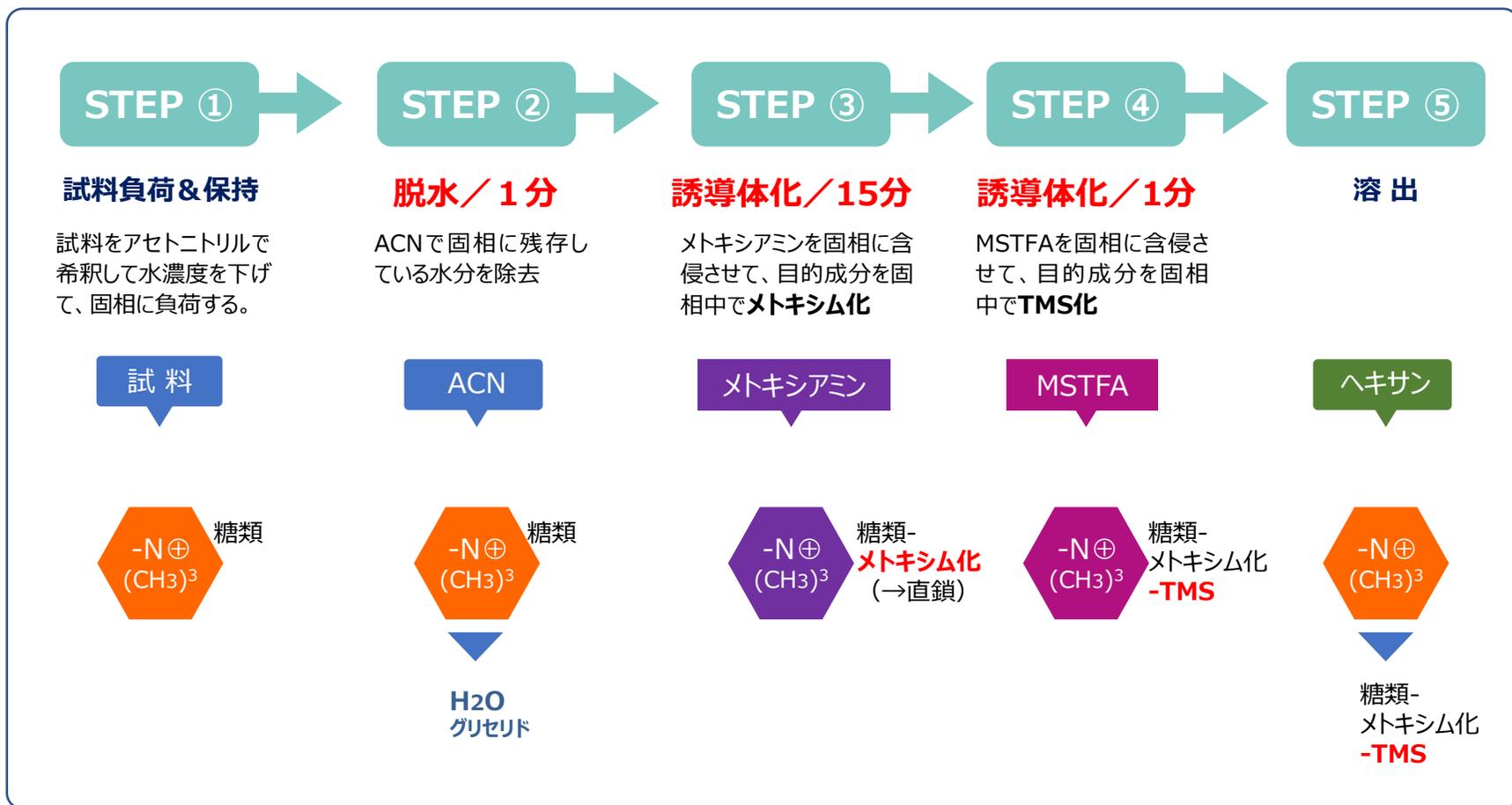


- Formic acid-tBDMS
- Propanoic acid-tBDMS
- Pentanoic acid-tBDMS
- Heptanoic acid-tBDMS
- Lactic acid-tBDMS
- Succinic acid-2tBDMS
- Malic acid-3tBDMS
- Tartaric acid-4tBDMS
- Acetic acid-tBDMS
- Butanoic acid-tBDMS
- Hexanoic acid-tBDMS
- Octanoic acid-tBDMS
- Maleic acid-2tBDMS
- Fumaric acid-2tBDMS
- a-Ketoglutaric acid-tBDMS
- Citric acid-4tBDMS

- 1 Formic acid pKa = 3.7
- 2 Acetic acid pKa = 4.6
- 3 Propanoic acid pKa = 4.8
- 4 Butanoic acid pKa = 4.8
- 5 Pentanoic acid pKa = 4.8
- 6 Hexanoic acid pKa = 5.1
- 7 Heptanoic acid pKa = 5.1
- 8 Lactic acid pKa = 3.8
- 9 Octanoic acid pKa = 5.2
- 10 Maleic acid pKa = 3.1
- 11 Succinic acid pKa = 3.5
- 12 Fumaric acid pKa = 3.6
- 13 Malic acid pKa = 3.2
- 14 a-Ketoglutaric acid
- 15 Tartaric acid pKa = 2.7
- 16 Citric acid pKa = 3.0



# 固相誘導体化法：糖類



特許登録：(株)アイスティサイエンス



# メトキシアミンによる誘導体化反応時間

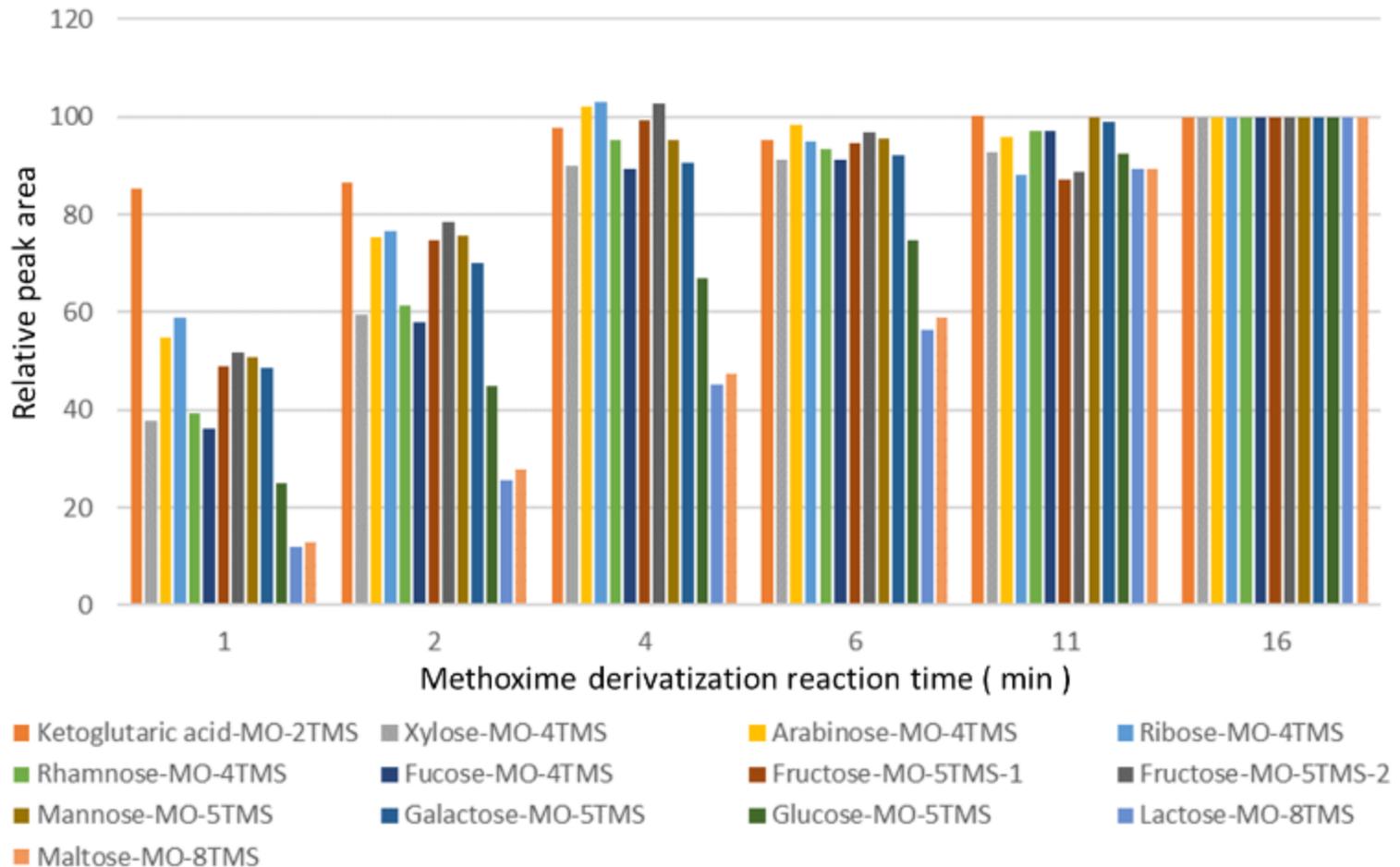
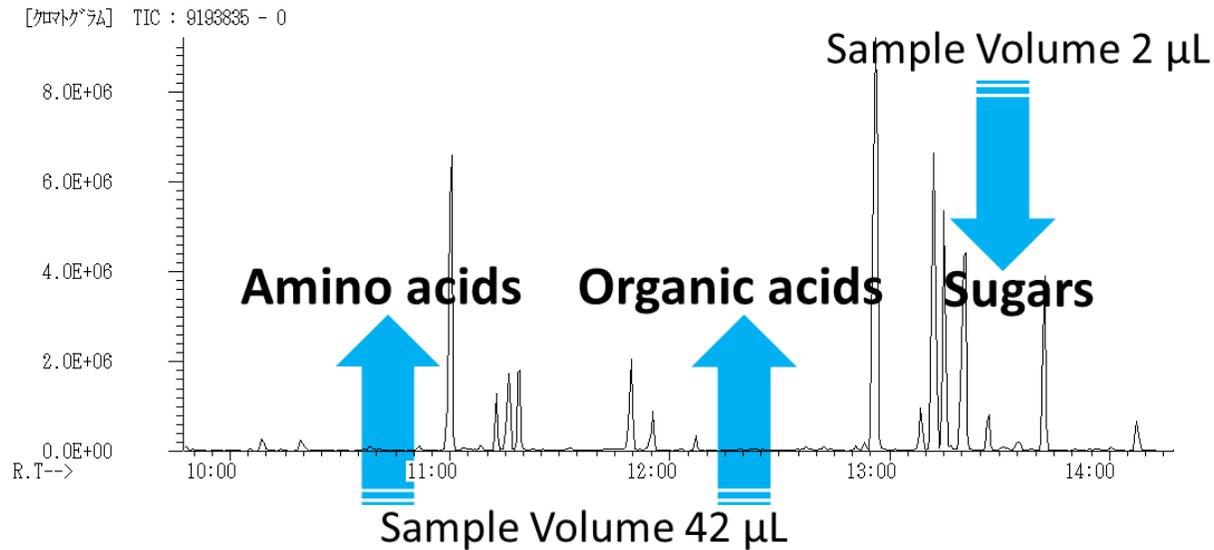
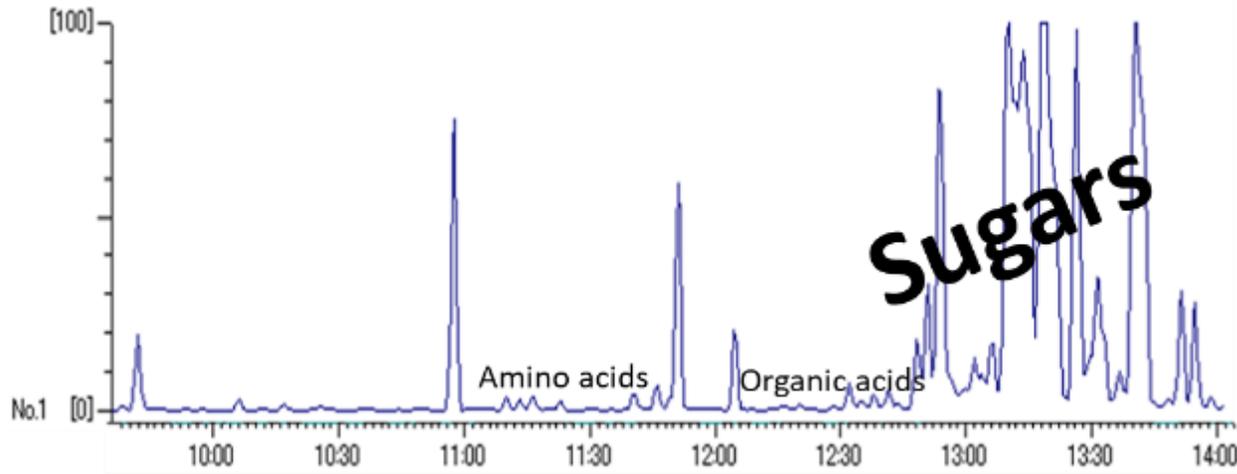
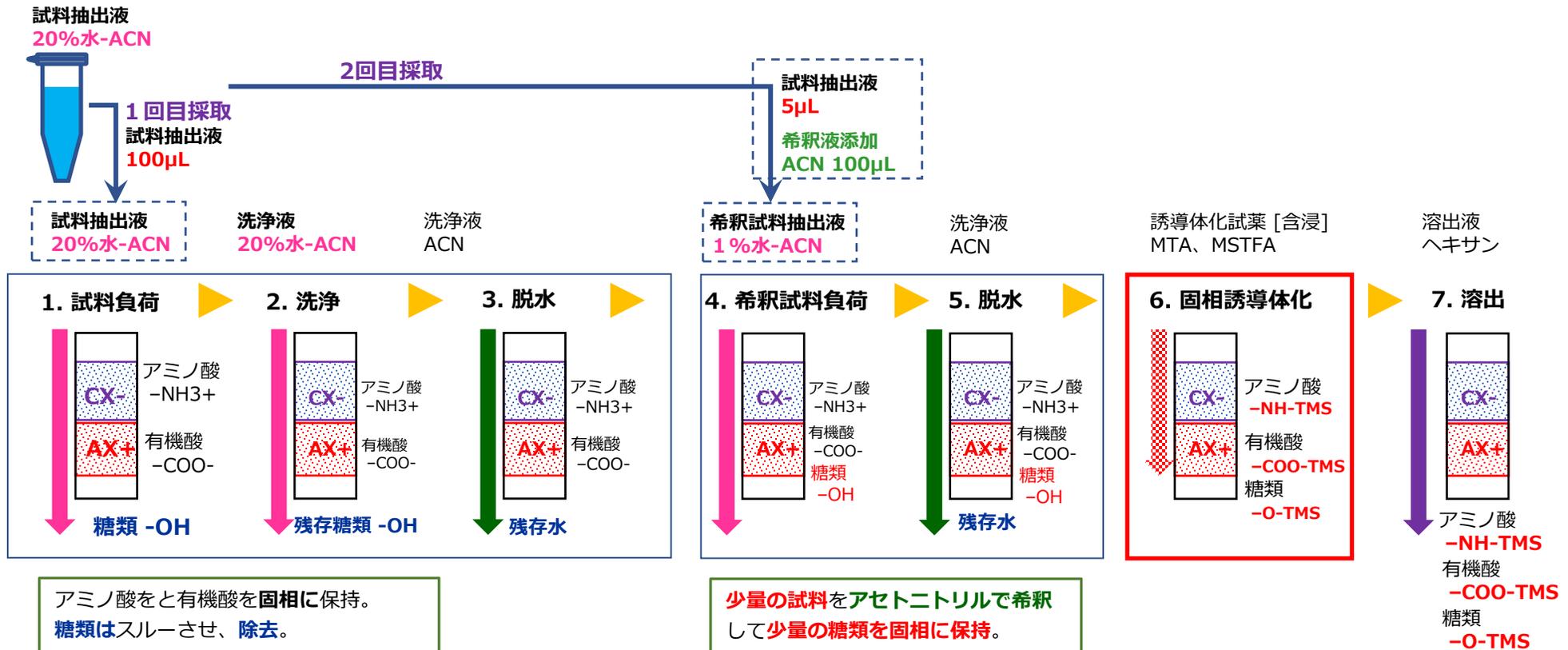


Fig. 3. Relations of methoxime derivatization reaction time in sorbent and the relative peak area

# 糖類を多く含む試料の分析の課題と対策



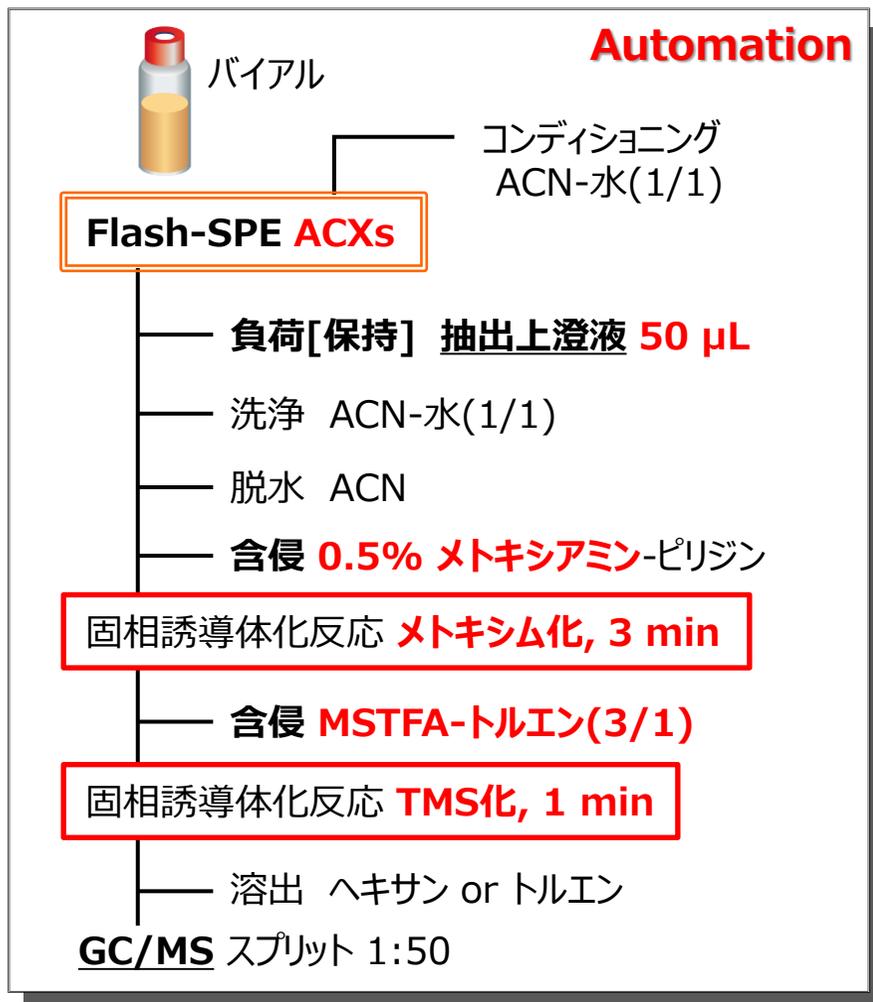
# 2段階試料分取法：構想



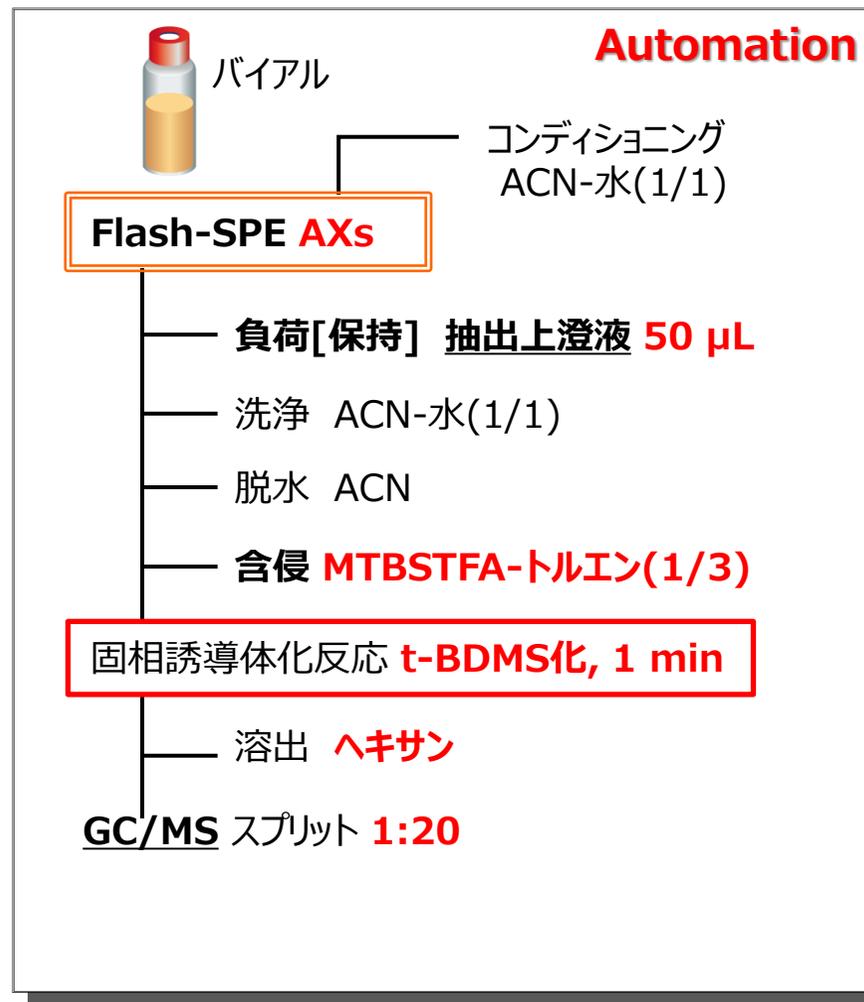
第1回目の試料負荷では糖類は固相に保持させず、アミノ酸と有機酸を固相に保持させておき、第2回目の試料負荷では先の試料量の1/20以下にして先の固相に糖類を保持させ、アセトニトリルで洗浄することで脱水を行い、アミノ酸と有機酸と糖質が固相に保持された状態で誘導体化試薬を固相に添加含浸させて誘導体化し、その後、一斉にヘキサンで溶出した。

# 前処理フロー

## ■ アミノ酸/有機酸

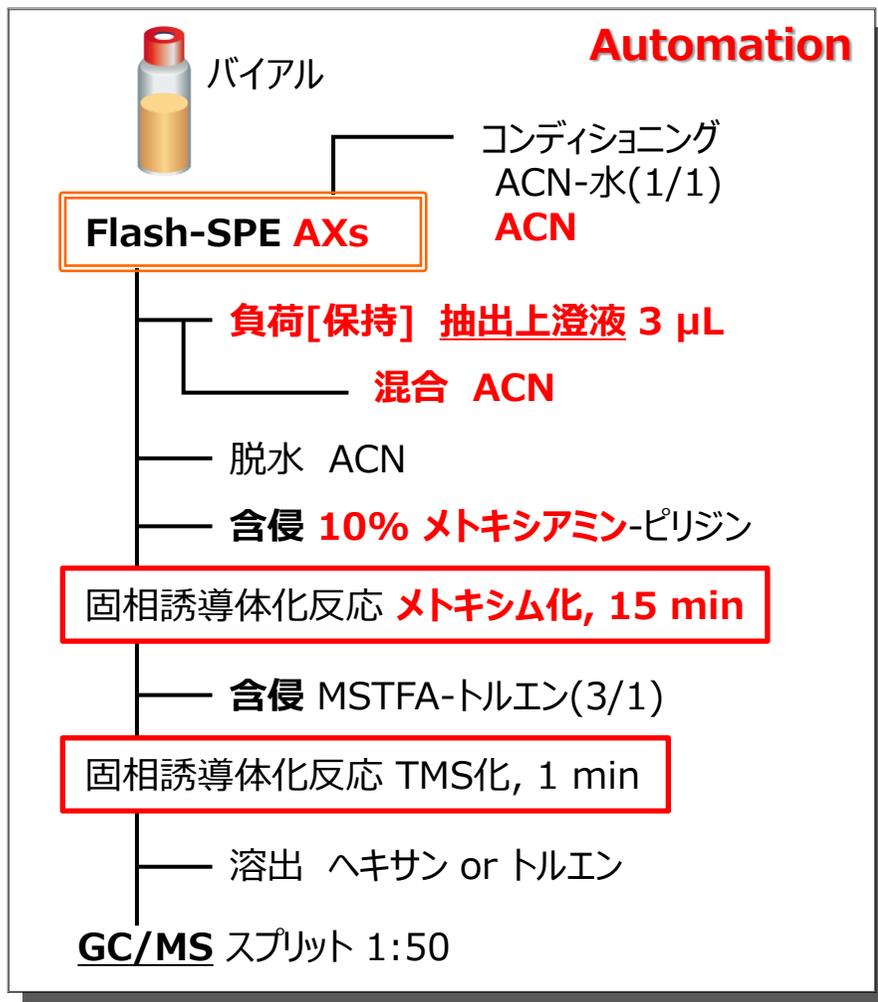


## ■ 短鎖脂肪酸



# 前処理フロー

## ■ 糖類



## ■ アミノ酸/有機酸/糖類 **Automation**



**測定条件：アミノ酸/有機酸、糖類**

---

**SPE-GC Interface SGI-M100 (AiSTI Science)**

SPE Cartridge Flash-ACX

Sampling Volume 50  $\mu$ L**PTV Injector LVI-S250 (AiSTI Science)**

Insert Type Spiral Insert

Injector Temp. **220°C**(0.5min)-50°C/min-290°C(16min)**GC**

Inlet Mode Split 1:50

Flow Mode Constant Flow, 1 ml/min

Pre-Column 0.25mm i.d. x 1m

Column Vf-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25 $\mu$ mOven Temp. **100°C(2min)**-10°C/min-220°C-30°C/min-310°C(4.7min)

Trans. Line Temp. 290°C

**MS**

MS Method SCAN, m/z;70-470

## 測定条件：短鎖脂肪酸

---

### **SPE-GC Interface SGI-M100 (AiSTI Science)**

SPE Cartridge Flash-ACX

Sampling Volume 50  $\mu$ L

### **PTV Injector LVI-S250 (AiSTI Science)**

Insert Type Spiral Insert

Injector Temp. **150°C**(0.5min)-25°C/min-290°C(16min)

### **GC**

Inlet Mode Split 1:20

Flow Mode Constant Flow, 1 ml/min

Pre-Column 0.25mm i.d. x 1m

Column Vf-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25 $\mu$ m

Oven Temp. **60°C(3min)**-10°C/min-100°C-20°C/min-310°C(4min)

Trans. Line Temp. 290°C

### **MS**

MS Method SCAN, m/z;70-470

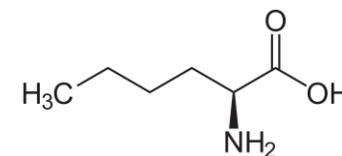
---

# 内標について

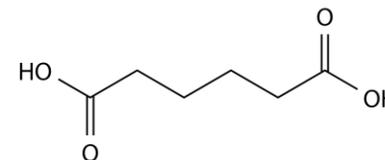
従来法では2-イソプロピルリンゴ酸 (Isopropyl malic acid)や  
 リビトールなどが使用されていますが、

固相誘導体化法では、固相の保持に合わせる必要があるため、アミノ酸、  
 有機酸、糖類、短鎖脂肪酸のそれぞれに適した内標が必要となります。

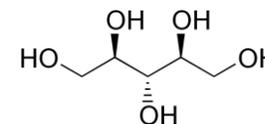
アミノ酸：ノルロイシン



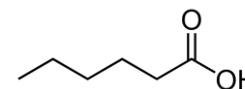
有機酸：アジピン酸



糖類：リビトール



短鎖脂肪酸：ヘキサン酸-d (検討中)



# 本システムによるアミノ酸/有機酸/糖類のSCAN-TIC

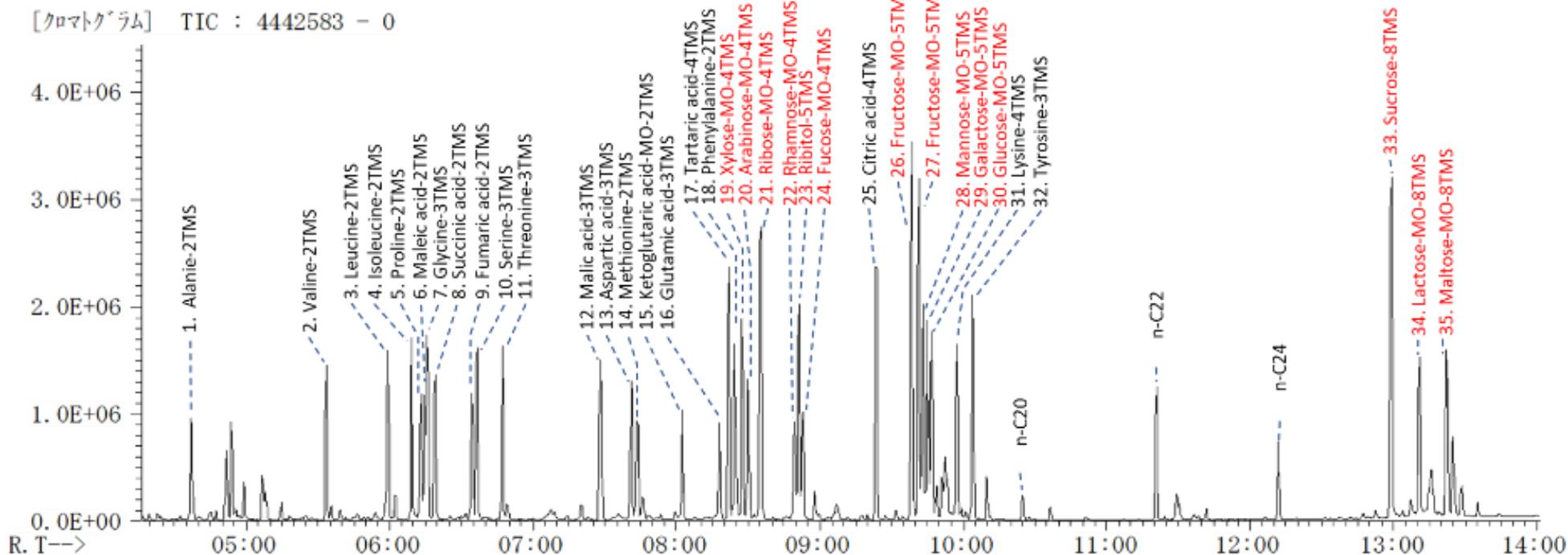


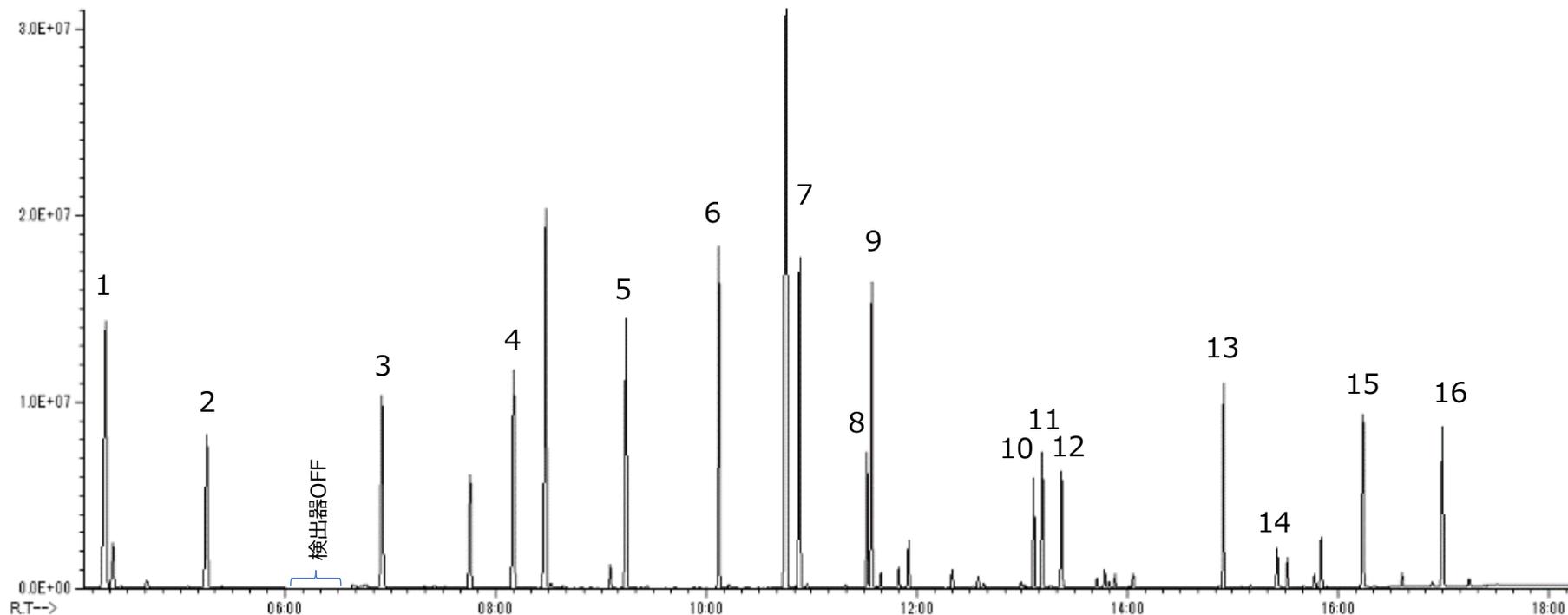
Fig. 2. The SCAN total ion chromatogram of standard solution using SPE-GC-MS system with automated solid-phase derivatization method

\* Concentration of **amino acids and organic acids** standard solution is **0.02nmol/ $\mu$ L**

\* Concentration of **sugars** standard solution is **0.2nmol/ $\mu$ L**

# t-BDMS誘導体化による短鎖脂肪酸と有機酸のSCAN-TIC

[007674] TIC : 81036800 - 0

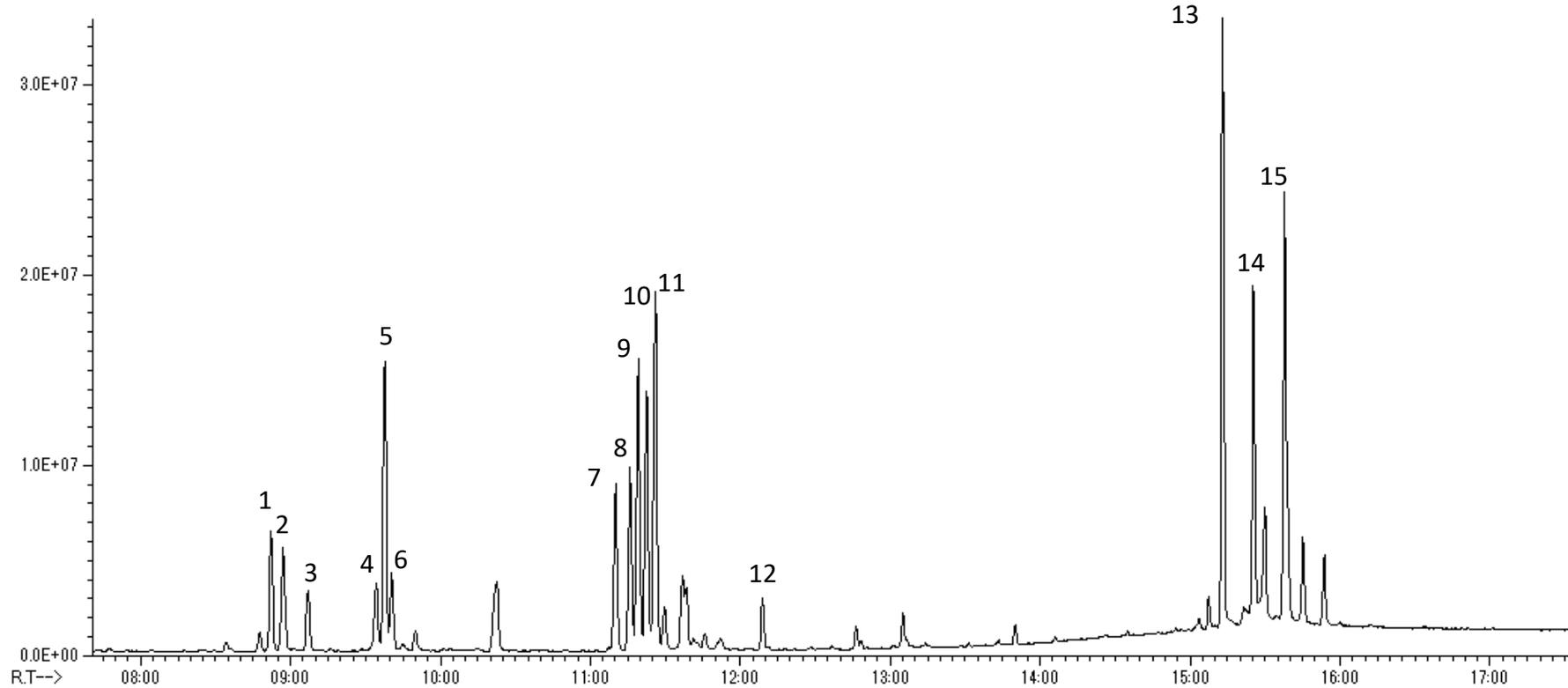


- |                         |                          |                                |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| 1. Methanoic acid-tBDMS | 7. Heptanoic acid-tBDMS  | 13. Malic acid-3tBDMS          |
| 2. Ethanoic acid-tBDMS  | 8. Lactic acid-2tBDMS    | 14. a-Ketoglutaric acid-3tBDMS |
| 3. Propanoic acid-tBDMS | 9. Octanoic acid-tBDMS   | 15. Tartaric acid-4tBDMS       |
| 4. Butanoic acid-tBDMS  | 10. Maleic acid-2tBDMS   | 16. Citric acid-4tBDMS         |
| 5. Pentanoic acid-tBDMS | 11. Succinic acid-2tBDMS |                                |
| 6. Hexanoic acid-tBDMS  | 12. Fumaric acid-2tBDMS  |                                |

Fig. 14 本法による短鎖脂肪酸と多価カルボン酸のSCANトータルイオンクロマトグラム

# 本システムによる糖類のSCAN-TIC

[クロマトグラム] TIC : 33473768 - 0

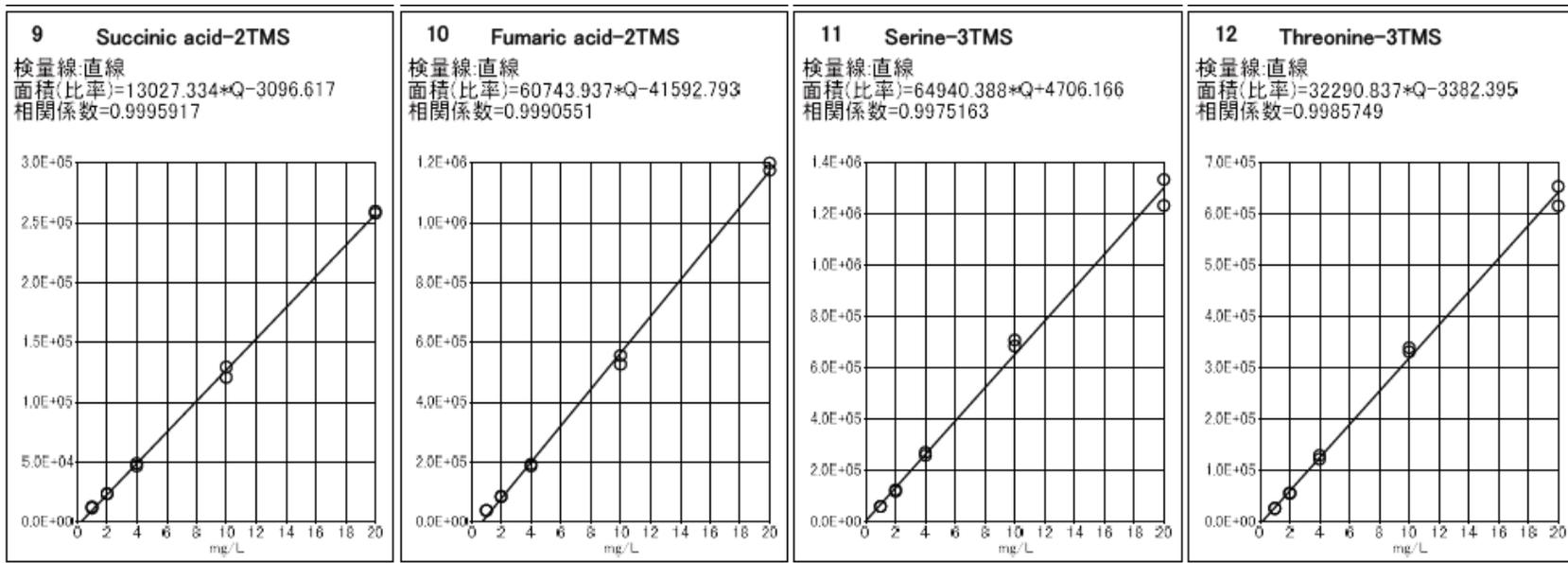


1	Xylose-MO-4TMS
2	Arabinose-MO-4TMS
3	Ribose-MO-4TMS
4	Rhamnose-MO-4TMS
5	Ribitol-5TMS

6	Fucose-MO-4TMS
7	Fructose-MO-5TMS-1
8	Fructose-MO-5TMS-2
9	Mannose-MO-5TMS
10	Galactose-MO-5TMS

11	Glucose-MO-5TMS
12	Glucopyranose-5TMS
13	Sucrose-8TMS
14	Lactose-MO-8TMS
15	Maltose-MO-8TMS

# 検量線作成について



バイアル中濃度：アミノ酸, 有機酸：0.05, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 nmol/μL (mM)

## ★ 検量線を作成する時の注意点

濃度が高すぎると・・・

混合成分数が多すぎると・・・

アミノ酸の混合標準溶液は0.1N HClが含有している場合が多く、pH調整が必要。

# 抽出：血清/血漿

## 試料採取 50 $\mu$ L

└─ 添加 水 150  $\mu$ L

振とう抽出 (37 $^{\circ}$ C, 30分)

└─ 添加 アセトニトリル 800  $\mu$ L

振とう (37  $^{\circ}$ C, 30 min)

遠心分離 14000 rpm, 3 min

抽出液



## 【アミノ酸/有機酸 短・中・長鎖脂肪酸】

分取 抽出上澄液 500  $\mu$ L

└─ 添加 水 500  $\mu$ L

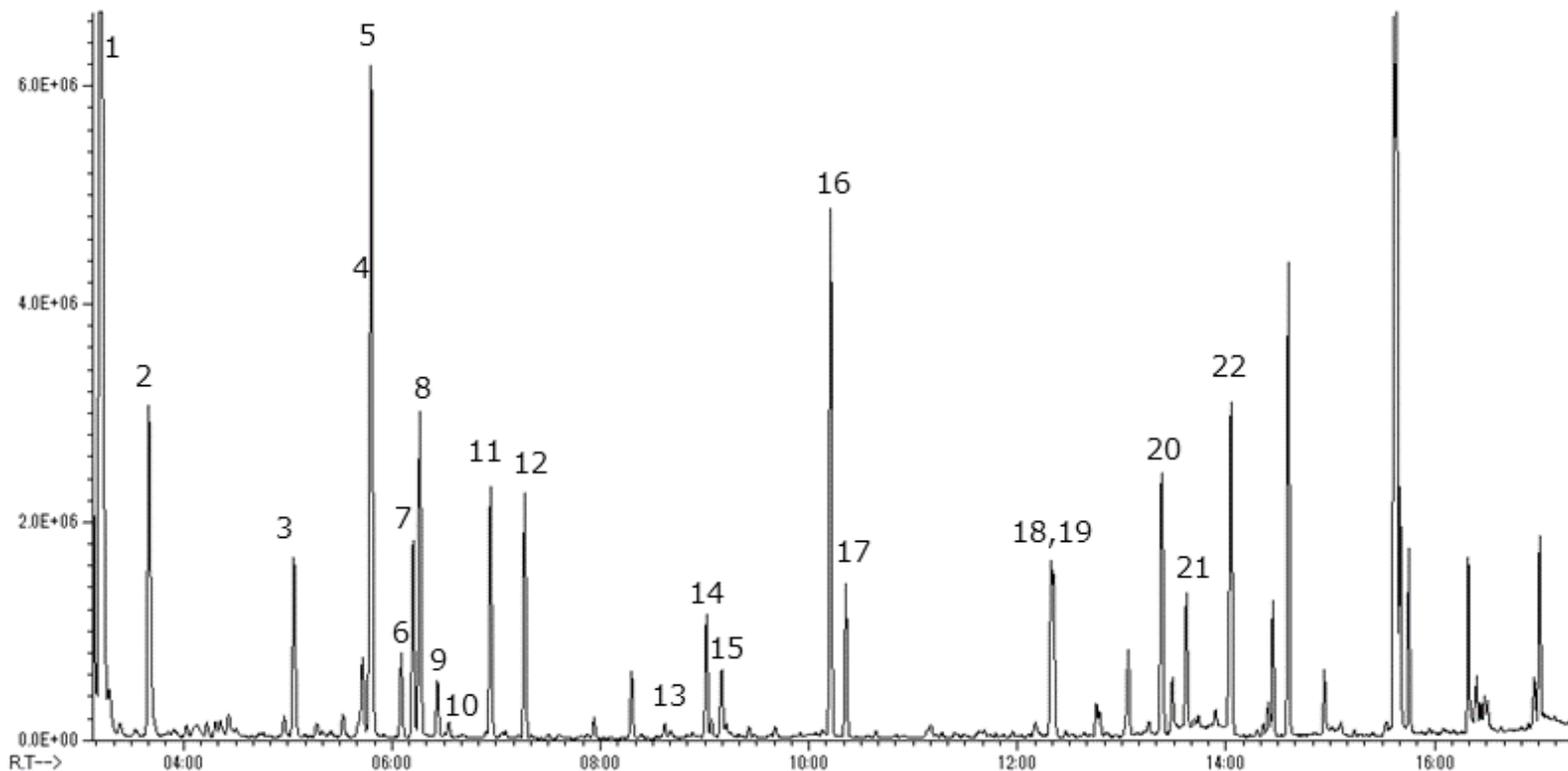
└─ 添加 0.1M NaOH

約pH8に調整

検液



# マウス血清のSCAN-TIC



- |                        |                      |                   |                          |                      |                      |
|------------------------|----------------------|-------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| ① Lactic acid-2TMS     | ⑥ Isoleucine-2TMS    | ⑪ Serine-3TMS     | ⑬ Malic acid-3TMS        | ⑰ Phenylalanine-2TMS | ⑳ Tyrosine-3TMS      |
| ② Alanine-2TMS         | ⑦ Proline-2TMS       | ⑫ Threonine-3TMS  | ⑭ Aspartic acid-3TMS     | ⑱ Citric acid-4TMS   | ㉑ Gluconic acid-6TMS |
| ③ Valine-2TMS          | ⑧ Glycine-3TMS       | ⑬ Malic acid-3TMS | ⑮ Pyroglutamic acid-2TMS | ⑲ Citric acid-4TMS   |                      |
| ④ Leucine-2TMS         | ⑨ Succinic acid-2TMS | ⑯ Ornithine-4TMS  |                          |                      |                      |
| ⑤ Phosphoric acid-3TMS | ⑩ Glyceric acid-3TMS | ⑳ Lysine-4TMS     |                          |                      |                      |

# 血清の添加回収試験

No.	成分名	Standard	操作Blank	マウス血清	マウス血清 + ST	回収率,% (A-M)/(ST-B)
		ST	B	M	A	
1	Lactic acid-2TMS	2,641,331	2,044,267	14,805,790	11,895,241	-
2	Alanine-2TMS	2,526,424	84,451	4,971,432	6,847,093	77
6	Valine-2TMS	3,223,917	8,177	2,224,994	5,182,605	92
9	Leucine-2TMS	3,806,169	9,760	3,940,497	7,217,079	86
10	Isoleucine-2TMS	3,483,014	5,009	958,681	4,444,077	100
11	Proline-2TMS	3,349,273	6,613	3,008,108	5,928,827	87
12	Glycine-3TMS	2,822,020	38,903	3,192,716	5,175,424	71
14	Succinic acid-2TMS	5,442,569	51,260	607,407	6,159,930	103
15	Fumaric acid-2TMS	1,886,256	3,365	11,533	1,967,128	104
16	Serine-3TMS	1,763,290	19,550	1,451,277	3,032,036	91
17	Threonine-3TMS	584,437	2,454	484,176	957,064	81
18	Malic acid-3TMS	610,728	1,773	18,302	629,151	100
20	Aspartic acid-3TMS	2,929,674	5,116	784,543	3,822,406	104
21	Methionine-2TMS	321,403	1,578	77,627	321,294	76
22	4-Hydroxyproline-3TMS	2,400,683	122	54,733	1,997,473	81
23	GABA-3TMS	808,381	5,804	9,875	776,441	96
25	Threonic acid-4TMS	331,448	417	27,125	202,330	53
27	Glutamic acid-3TMS	2,350,172	2,555	3,437,586	6,150,075	116
28	Phenylalanine-2TMS	1,457,813	1,404	690,541	2,098,341	97
31	Putrescine-4TMS	4,356,542	1,610	9,512	4,597,459	105
33	Citric acid-4TMS	911,581	660	216,437	1,160,422	104
36	Lysine-4TMS	1,587,702	1,259	940,190	2,675,748	109
37	Histidine-3TMS	2,194,472		10,446	3,240,581	147
38	Tyrosine-3TMS	4,650,501	1,959	1,175,034	5,939,201	102
41	Tryptophan-3TMS	230,794	0	29,096	398,017	160
43	Cystine-4TMS	2,142,088	0	14,728	2,196,172	102

# 本システムによるマウス血清の再現性

No.	成分名	U1	U2	U3	U4	U5	Ave.	RSD,%
1	Lactic acid-2TMS	14,649,682	15,089,600	13,841,394	15,639,698	14,808,578	14,805,790	4.4
2	Alanine-2TMS	5,118,252	4,719,988	4,790,287	5,126,762	5,101,869	4,971,432	4.0
6	Valine-2TMS	2,261,504	2,125,119	2,152,889	2,285,552	2,299,904	2,224,994	3.6
9	Leucine-2TMS	4,005,604	3,817,067	3,780,734	4,039,212	4,059,866	3,940,497	3.3
10	Isoleucine-2TMS	971,384	928,534	931,475	980,243	981,767	958,681	2.8
11	Proline-2TMS	3,078,401	2,818,958	2,910,867	3,100,657	3,131,659	3,008,108	4.5
12	Glycine-3TMS	3,243,322	2,973,200	3,083,005	3,312,366	3,351,687	3,192,716	5.0
14	Succinic acid-2TMS	609,722	610,940	585,493	627,168	603,713	607,407	2.5
15	Fumaric acid-2TMS	11,626	11,149	10,691	11,947	12,254	11,533	5.4
16	Serine-3TMS	1,466,003	1,327,848	1,366,049	1,533,536	1,562,951	1,451,277	7.1
17	Threonine-3TMS	497,778	441,900	461,299	506,740	513,163	484,176	6.4
18	Malic acid-3TMS	19,076	18,062	17,173	18,728	18,470	18,302	4.0
20	Aspartic acid-3TMS	745,837	821,214	711,854	825,260	818,549	784,543	6.7
21	Methionine-2TMS	71,255	66,983	76,059	92,889	80,950	77,627	12.9
22	4-Hydroxyproline-3TMS	54,583	47,943	51,238	58,569	61,333	54,733	9.9
23	GABA-3TMS	10,265	8,742	9,675	10,265	10,430	9,875	7.0
25	Threonic acid-4TMS	28,177	28,501	22,545	29,638	26,765	27,125	10.2
27	Glutamic acid-3TMS	3,365,311	3,486,693	3,156,198	3,603,886	3,575,843	3,437,586	5.3
28	Phenylalanine-2TMS	682,545	669,938	666,324	718,207	715,692	690,541	3.6
31	Putrescine-4TMS	9,970	9,716	9,256	8,922	9,694	9,512	4.4
33	Citric acid-4TMS	212,800	218,960	209,116	224,337	216,971	216,437	2.7
36	Lysine-4TMS	926,298	906,996	922,350	974,013	971,295	940,190	3.2
37	Histidine-3TMS	10,802	9,595	9,636	10,237	11,959	10,446	9.4
38	Tyrosine-3TMS	1,192,371	1,093,010	1,123,091	1,241,557	1,225,141	1,175,034	5.5
41	Tryptophan-3TMS	29,187	29,591	28,393	29,027	29,282	29,096	1.5
43	Cystine-4TMS	15,113	14,209	13,349	15,634	15,333	14,728	6.4

ピーク面積値（絶対値）  
の結果です。

内標による補正はしていません。

## アミノ酸、有機酸メソッドでの再現性、耐久性試験 マウス血清 100回の連続測定×2回

	RT	マウス血清 Lot.1 100回		マウス血清 Lot.2 100回	
		average	%RSD	average	%RSD
Lactic acid 2TMS	2.74	1688847	5.0	1853041	6.2
Alanine 2TMS	3.06	587522	2.7	740790	2.2
Malonic acid 2TMS	3.79	31366	3.8	40091	3.8
Valine 2TMS	3.87	237318	2.5	298638	2.2
Benzoic Acid, TMS	4.13	7221	8.7	7318	8.5
Leucine 2TMS	4.27	469204	2.6	590823	2.0
Isoleucine 2TMS	4.42	102421	2.4	130129	2.2
Proline 2TMS	4.46	309139	3.9	407225	2.4
Maleic acid 2TMS	4.50	69701	4.1	88390	4.0
Glycine 3TMS	4.51	294420	4.2	370639	4.0
Succinic acid 2TMS	4.57	54141	2.0	66357	2.1
Serine 3TMS	4.87	185988	3.3	233449	3.8
Threonine 3TMS	5.04	86354	3.3	107792	3.9
Malic acid 2TMS	5.69	1857	7.2	2407	6.7
Methionine 2TMS	5.89	23333	11.8	32971	9.8
Aspartic acid 3TMS	5.89	101645	2.8	128257	6.2
Glutamic acid 3TMS	6.49	428765	5.8	552463	6.5
Phenylalanine 2TMS	6.53	102432	3.2	132811	2.7
Citric acid 4TMS	7.57	47365	4.0	59399	5.5
Lysine 4TMS	8.10	71583	4.4	95368	5.6
Tyrosine 3TMS	8.19	196160	3.5	248644	4.6
Palmitelaidic acid, TMS	8.60	26320	6.7	25599	6.5
Palmitic Acid, TMS	8.69	168891	4.2	169496	4.2
Cysteine 3TMS	9.62	5876	9.5	9146	8.4

マウス血清 Lot.1を100回連続測定し、その1週間後マウス血清 Lot.2を100回連続測定しました。

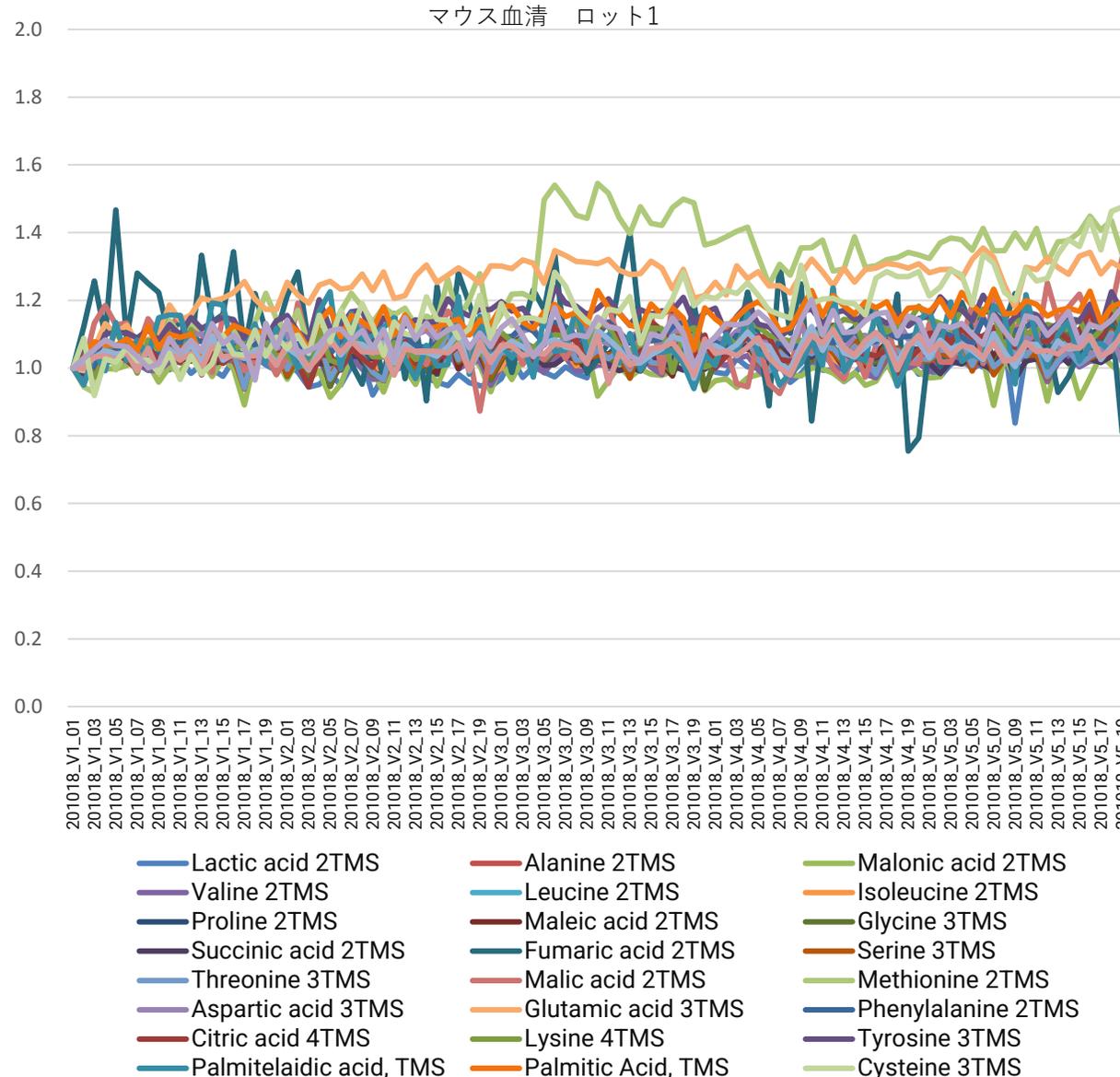
インサート、ガードチップ、カラム等の交換、イオン源の洗浄等のメンテナンスはしていません。

**ピーク面積値（絶対値）**  
の結果です。

内標による補正はしていません。

【参考資料】  
第15回メタボロームシンポジウム  
アジレント・テクノロジー杉立氏  
発表資料（共同研究）

# アミノ酸、有機酸メソッドでの再現性、耐久性試験 マウス血清 100検体



マウス血清 Lot.1を100回連続測定し、その1週間後マウス血清 Lot.2を100回連続測定しました。

インサート、ガードチップ、カラム等の交換、イオン源の洗浄等のメンテナンスはしていません。

**ピーク面積値（絶対値）**  
の結果です。

内標による補正はしていません。

【参考資料】  
第15回メタボロームシンポジウム  
アジレント・テクノロジー杉立氏  
発表資料（共同研究）

# オンライン固相誘導体化法：尿

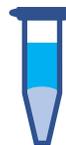
## 【抽出】

試料採取 尿 10  $\mu\text{L}$

添加 水 190 $\mu\text{L}$

添加 アセトニトリル 800 $\mu\text{L}$

振とう (1 min)



遠心分離 14000 rpm, 2 min

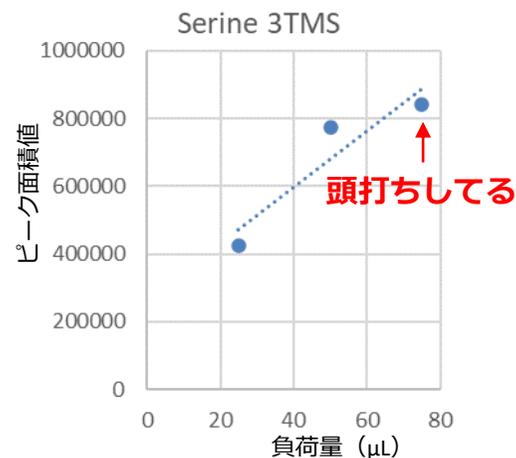
添加 0.1N NaOH

抽出上澄液

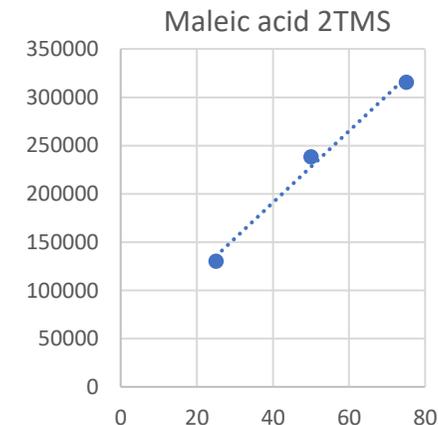
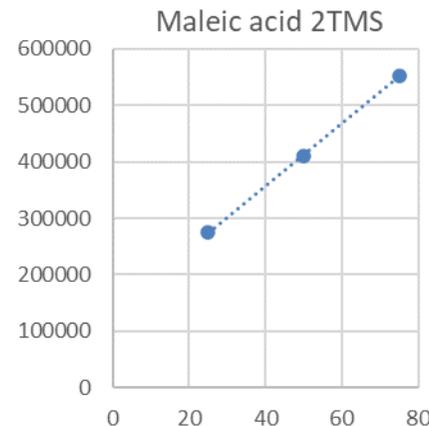
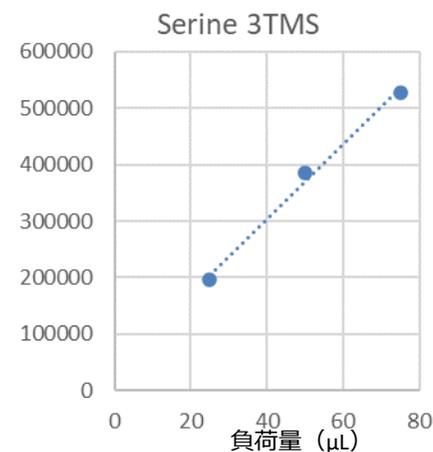


■ 負荷量試験：固相への負荷量を25, 50, 75 $\mu\text{L}$ でのピーク面積値

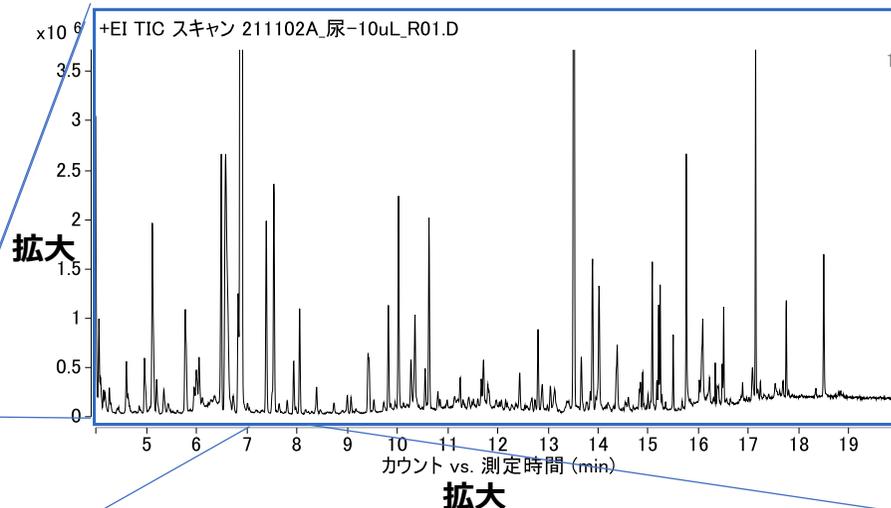
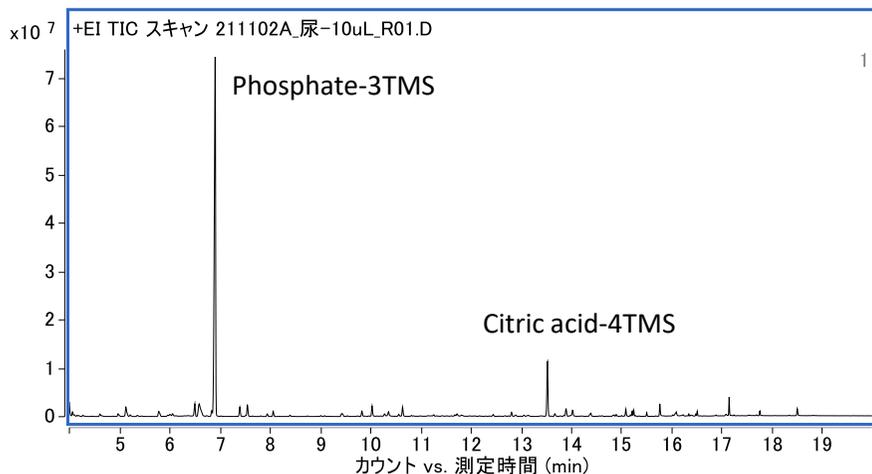
50 $\mu\text{L}$ 採取×2倍希釈



10 $\mu\text{L}$ 採取×希釈無し

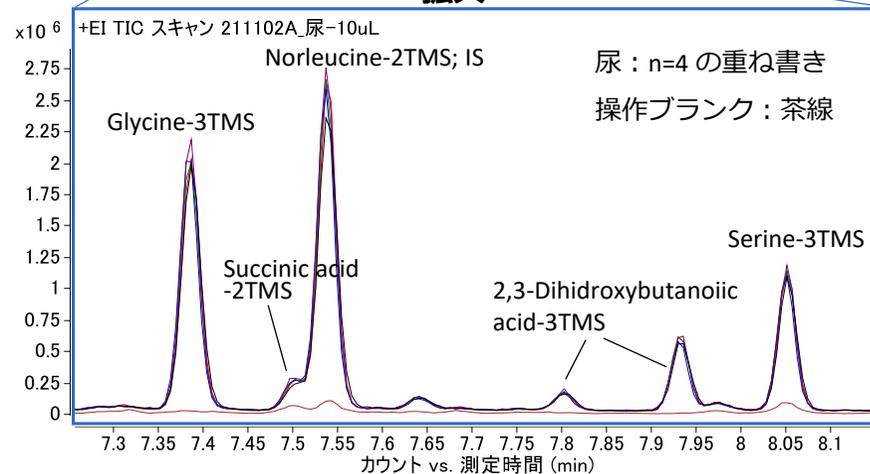


# 尿のSCAN-TIC



尿から高濃度のリン酸とクエン酸、そしてアミノ酸・有機酸を含めた多くの成分が検出された。

尿 n=4 の重ね書きのピークの再現性もよく、良好なクロマトグラムを得られた。



# 尿のアミノ酸・有機酸メソッドによる再現性

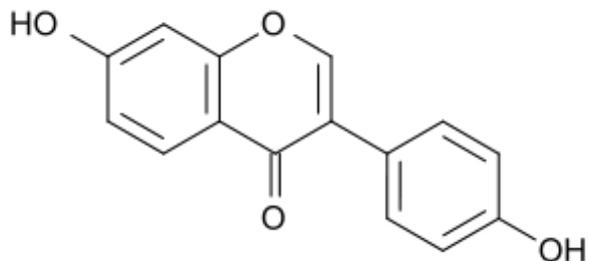
化合物名	1	2	3	4	Ave.	RSD, %
Alanine-2TMS	454,237	451,129	467,421	477,468	462,564	2.6
Valine-2TMS	63,877	59,890	62,083	64,867	62,679	3.5
Leucine-2TMS	45,276	41,099	40,934	43,398	42,676	4.8
Isoleucine 2TMS	20,450	19,162	17,851	18,615	19,020	5.8
Proline 2TMS	26,797	22,814	24,906	20,508	23,756	11.4
Glycine 3TMS	1,111,414	1,098,354	1,120,950	1,174,577	1,126,324	3.0
Serine 3TMS	405,652	415,183	389,251	412,685	405,693	2.9
Threonine 3TMS	67,052	69,451	66,368	69,104	67,994	2.2
Glutamic acid 3TMS	16,219	14,083	12,825	13,434	14,140	10.5
Phenylalanine 2TMS	37,860	36,978	34,966	36,532	36,584	3.3
Norleucine 2TMS-IS	1,898,393	1,876,725	1,870,739	1,984,343	1,907,550	2.8
Oxalic acid 2TMS	457,287	449,275	451,207	494,352	463,030	4.6
Maleic acid 2TMS	243,527	245,430	242,421	256,388	246,941	2.6
Succinic acid 2TMS	102,348	104,567	110,125	118,507	108,887	6.6
Citric acid 4TMS	2,952,604	2,887,417	2,989,869	3,091,864	2,980,438	2.9
Adipic acid 2TMS-IS	319,500	307,471	314,777	324,318	316,516	2.3

**ピーク面積値（絶対値）**

の結果です。

内標による補正はしていません。

# ダイゼイン類

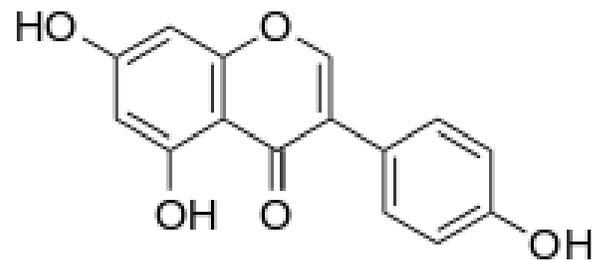


Daidzein

MW:254.2

Daidzein-2TMS

MW:398

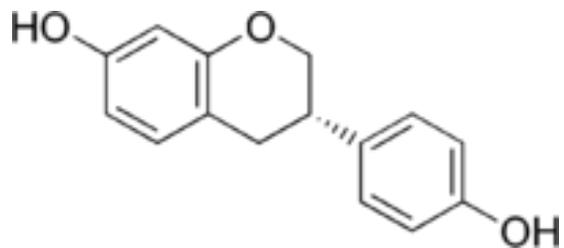


Genistein

MW:270.2

Genistein-3TMS

MW:486



Equol

MW:242.2

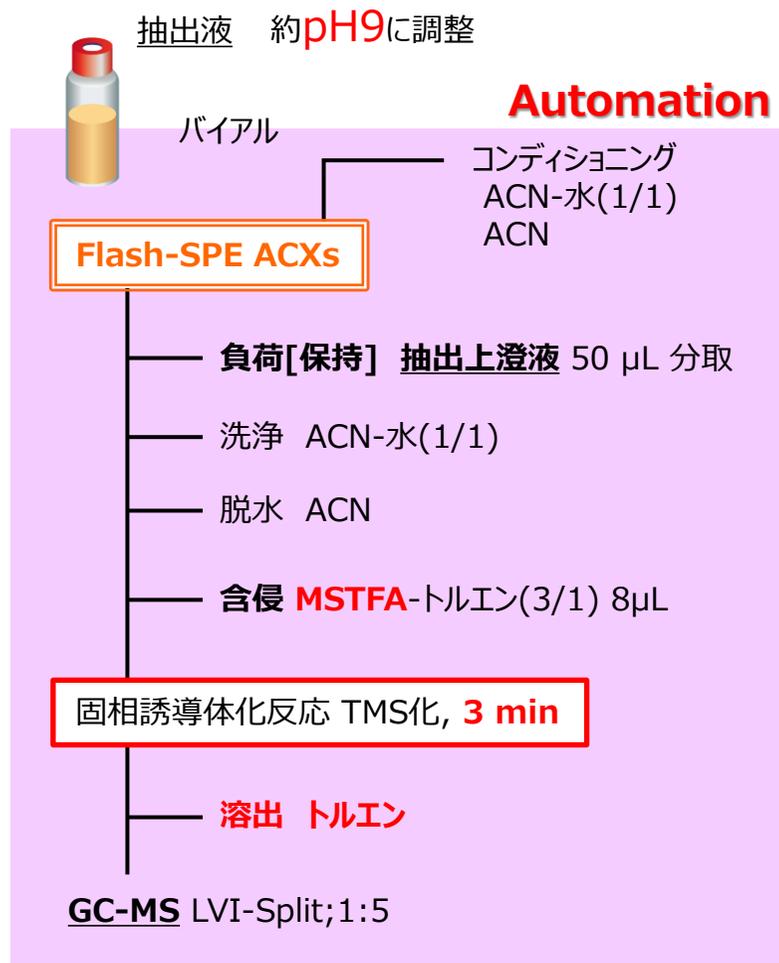
Equol-2TMS

MW:386

イソフラボン的一种。ダイゼインやゲニステインのような他のイソフラボン化合物は、イソ大豆や豆腐や植物性タンパク質大豆製品のような食品にも存在している。エクオールは、腸内細菌によってイソフラボン的一种であるダイゼインから代謝される。

しかし、約30-50%のヒトしかエクオールを作る腸内細菌を持っていない。(引用: Wikipedia)

# オンライン固相誘導体化法：ダイゼイン類



## 測定条件

### SPE-GC Interface **SPL-M100 (AiSTI Science)**

SPE Cartridge Flash-ACX  
Sampling Vol. 50  $\mu$ L

### PTV Injector **LVI-S250 (AiSTI Science)**

Insert Type Spiral Insert  
Injector Temp. **120°C(0.5min)-120°C/min-290°C(8min)**

### GC

Inlet Mode **Split Vent**  
**150mL/min(0.5min) -Split 1:5(2.5min)-  
GasSaver(3min)**

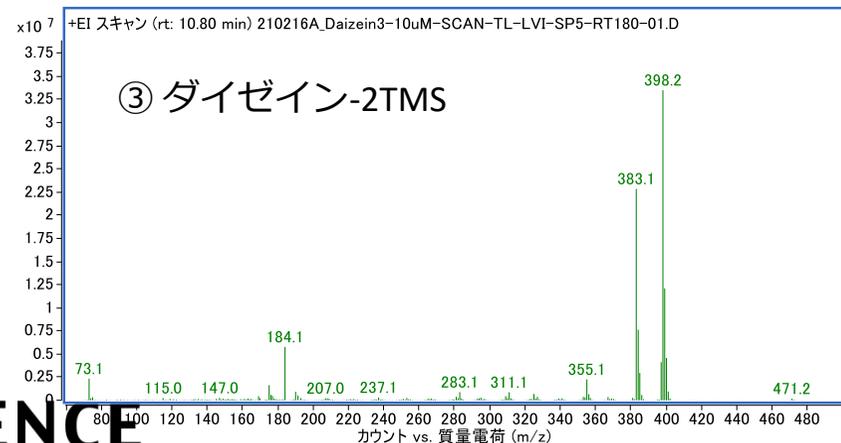
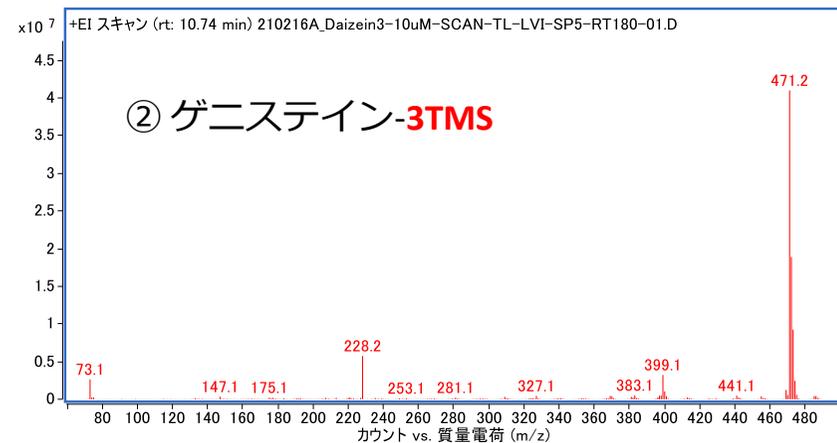
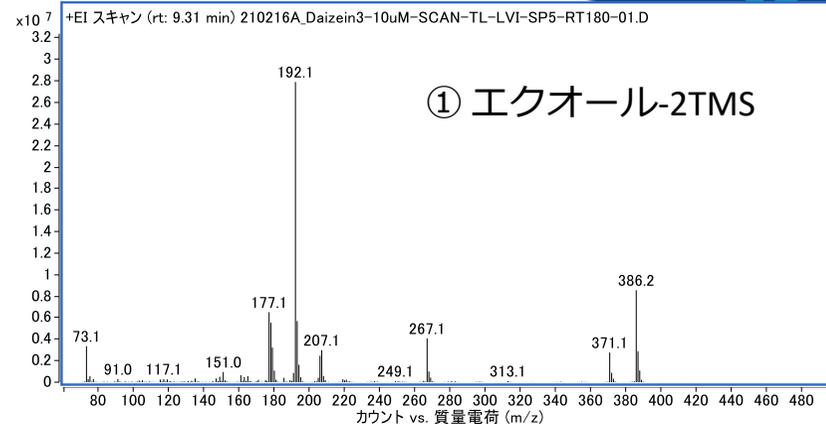
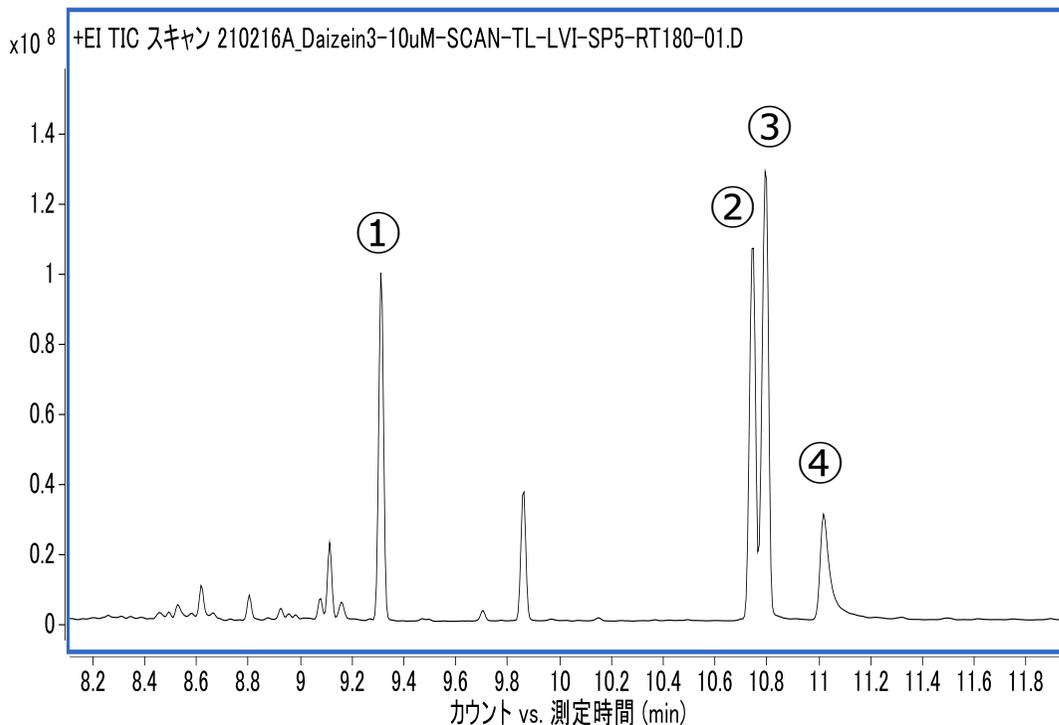
Flow Mode Constant Flow, 1 ml/min  
Pre-Column 0.25mm i.d. x 1m  
Column Vf-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25 $\mu$ m  
Oven Temp. **120°C(3min)-40°C/min-280°C-10°C/min  
-320°C(2min)**  
Trans. L.Temp. **320°C**

### MS

MS Method SCAN, m/z;70-490, or MRM

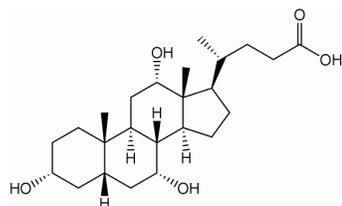
# ダイゼイン類3種のSCAN-TIC

## ダイゼイン類3種のSCAN-TIC

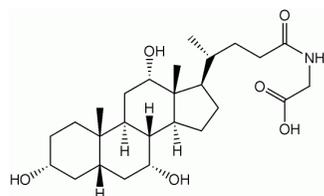


# 胆汁酸

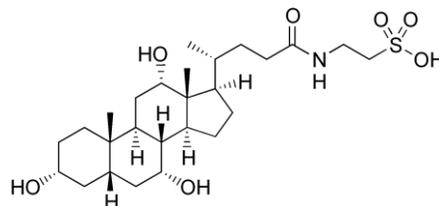
**一次胆汁酸：** 肝臓で生合成された胆汁酸を、一次胆汁酸と言う。肝臓で生合成された胆汁酸は、グリシンやタウリンと結び付いている場合が多く、これらは抱合胆汁酸と呼ばれる。



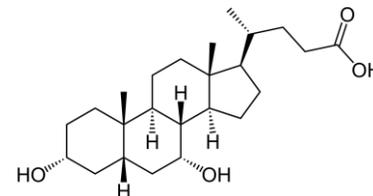
コール酸:CA



グリココール酸:GCA



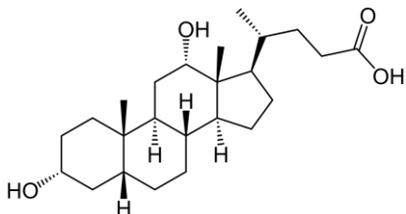
タウロコール酸:TCA



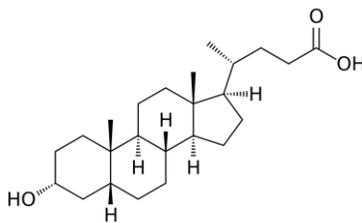
ケノデオキシコール酸:CDCA

ケノ=アヒル (ギリシャ語)

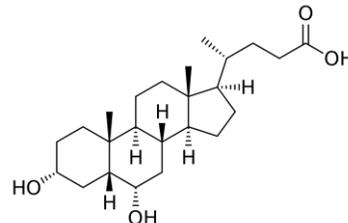
**二次胆汁酸：** 一次胆汁酸の一部は腸管で腸内細菌によって代謝を受け、その腸内細菌による代謝物は二次胆汁酸と言う。



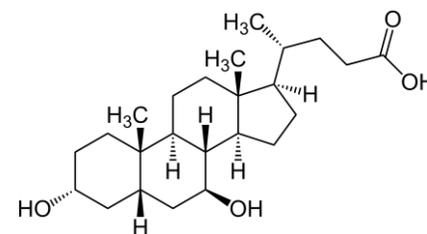
デオキシコール酸:DCA



リトコール酸:LCA

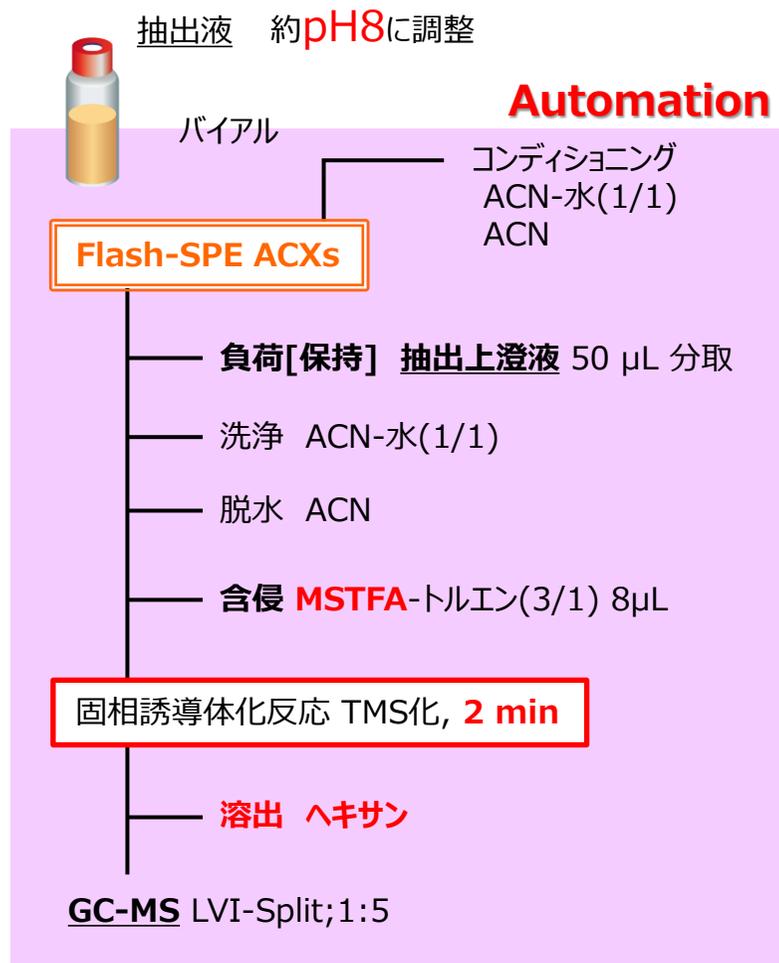


ヒオデオキシコール酸:HDCA



ウルソデオキシコール酸:UDCA

# オンライン固相誘導体化法：胆汁酸



## 測定条件

### SPE-GC Interface SPL-M100 (AiSTI Science)

SPE Cartridge Flash-ACX  
Sampling Vol. 50  $\mu$ L

### PTV Injector LVI-S250 (AiSTI Science)

Insert Type Spiral Insert  
Injector Temp. **120°C(0.5min)**-120°C/min-290°C(8min)

### GC

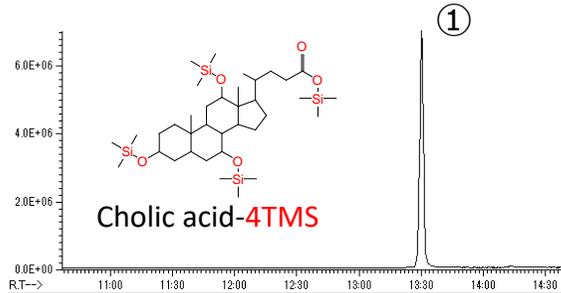
Inlet Mode **Split 1:50**  
Flow Mode Constant Flow, 1 ml/min  
Pre-Column 0.25mm i.d. x 1m  
Column Vf-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25 $\mu$ m  
Oven Temp. **100°C(2min)**-30°C/min-310°C-2°C/min  
**-325°C**  
Trans. L. Temp. **320°C**

### MS

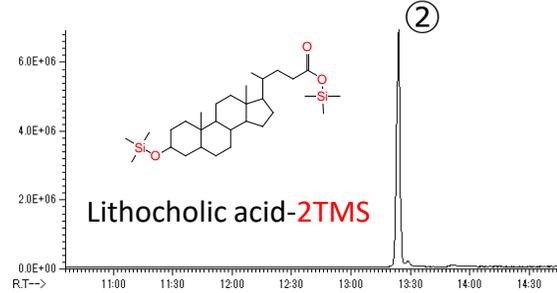
MS Method SCAN, m/z;70-470, or MRM

# 本法による胆汁酸のSCAN-TICとスペクトル

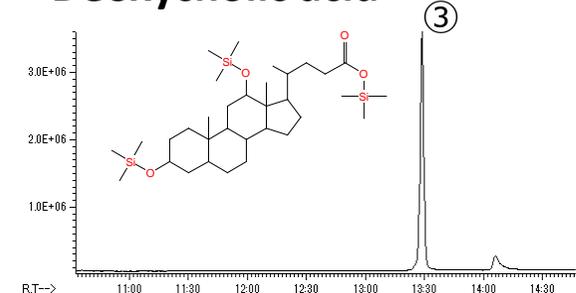
## Cholic acid



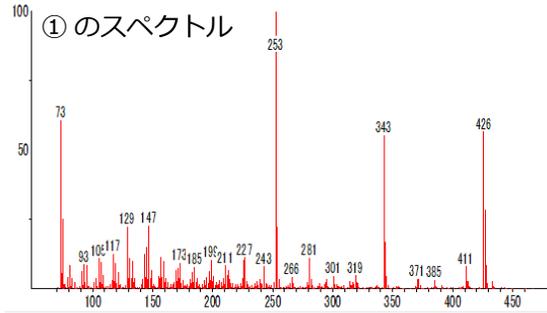
## Lithocholic acid



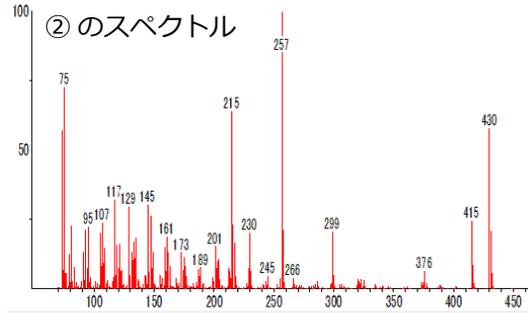
## Deoxycholic acid



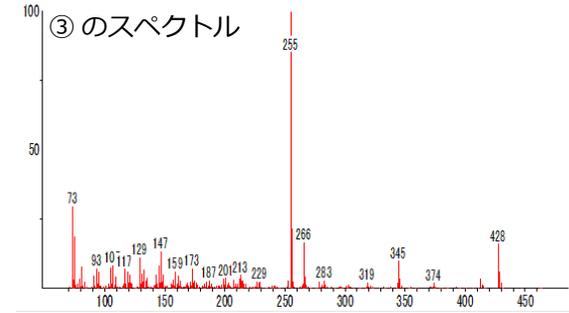
スキャン#1809-1782.1826 (RT=13.31) of D:\#95977B\#化合物-胆汁酸\200827A\_胆汁酸\_01\_コール酸.SPE



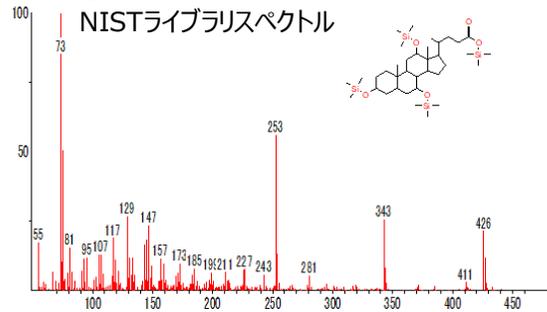
スキャン#1785-1714.1868 (RT=13.24) of D:\#95977B\#化合物-胆汁酸\200827A\_胆汁酸\_02\_リコール酸.SPE



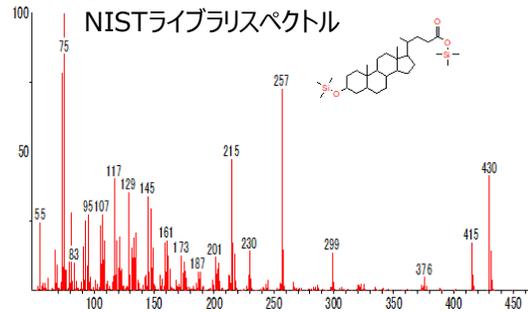
スキャン#1803-0 (RT=13.29) of D:\#95977B\#化合物-胆汁酸\VAIAEXPRT.AIA\200827A\_胆汁酸\_03\_デオキシコール酸.SPE



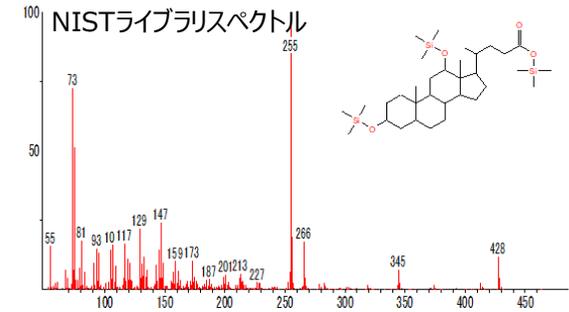
タイプ#1 類似度:85 化合物名:Cholan-24-oic acid,3,7,12-tri(trimethylsilyloxy)-, trimethyl



タイプ#1 類似度:97 化合物名:Lithocholic acid, bis(trimethylsilyl) deriv.



タイプ#1 類似度:84 化合物名:Deoxycholic acid, tri(trimethylsilyl) deriv.



# アイスティサイエンスのブース

■ Hall6 6A-504 (島津製作所様の横)



是非お立ち寄りください！