

【食品成分・香り分析】

**オンライン自動前処理-測定システム**

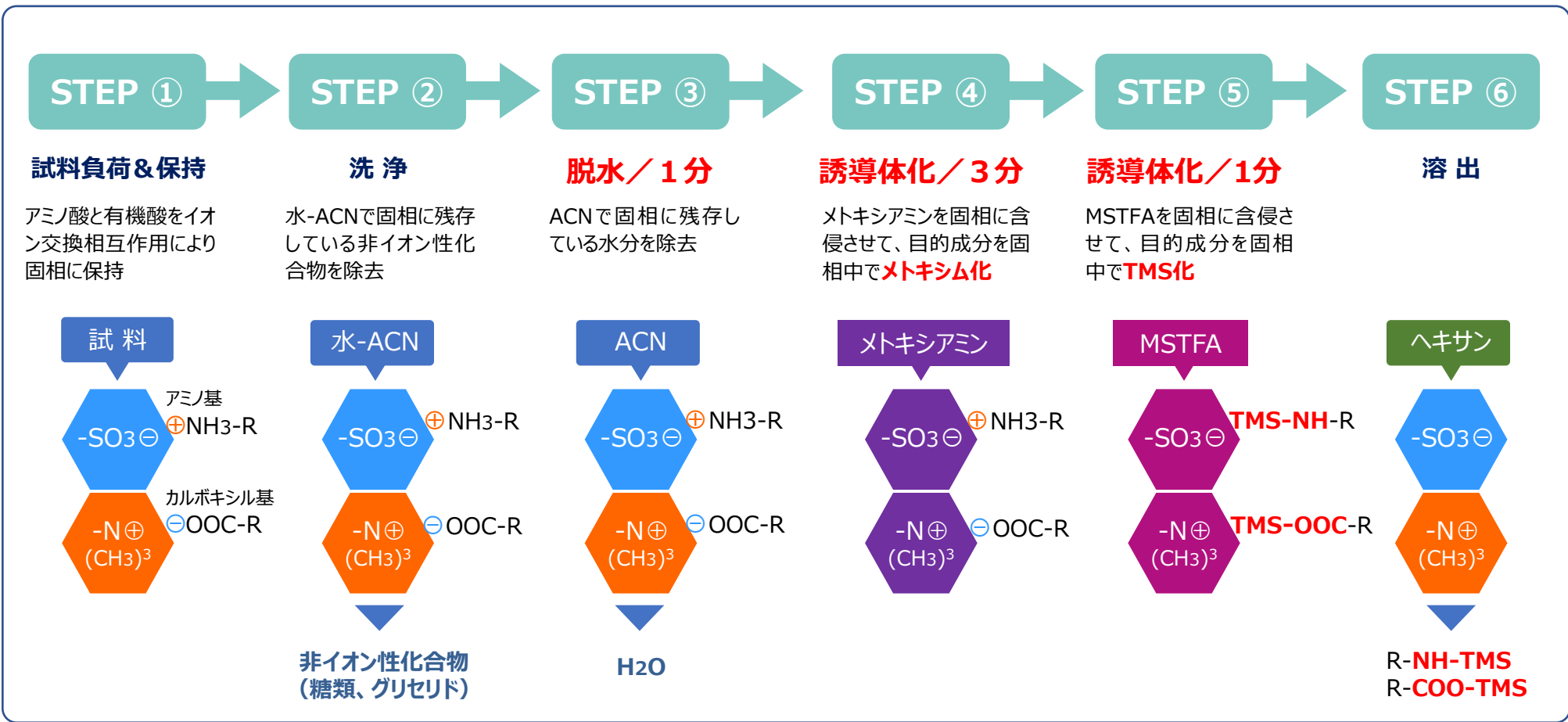
**アミノ酸,有機酸,脂肪酸等,糖類, 短鎖脂肪酸  
におい分析**



2021年11月9日  
株式会社アイスティサイエンス  
佐々野僚一

Beyond your Imagination

# 固相誘導体化法：アミノ酸/有機酸



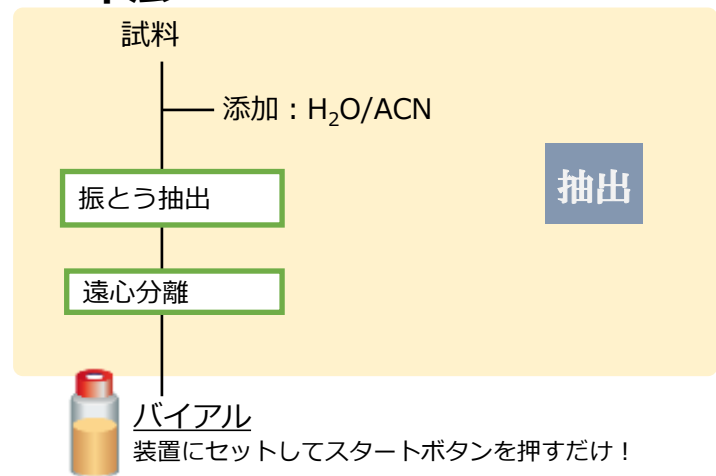
特許登録：(株)アイスティサイエンス

# 従来法と本法の前処理比較

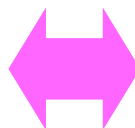
## ■ 従来法



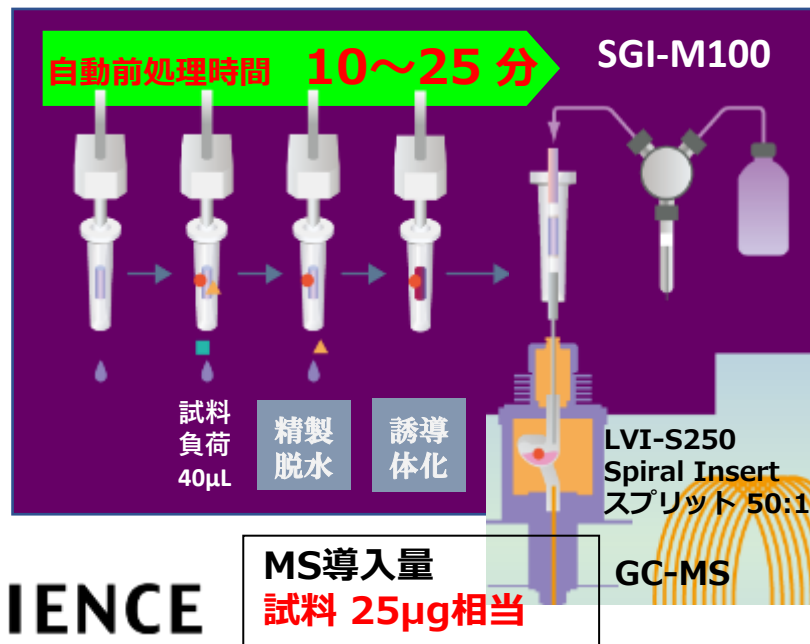
## ■ 本法



20 時間



## オンライン固相誘導体化SPE-GC-MS



# オンラインSPE-GC/MS system



SPL-M100とアジレント社製GCMS



SPL-M100と島津社製GCMS

# 前処理フロー

## 【ドライアイス凍結粉碎】

農作物の可食部100~200 g にドライアイスを加えて凍結粉碎した。

## 【抽出】

**試料採取** 10 g 凍結粉碎した試料

└─ 添加 水 10 mL

手振とう

└─ 添加 ACN 20 mL

振とう抽出 10 min

遠心分離 3500 rpm, 3 min

分取 抽出上澄液 500  $\mu$ L

└─ 添加 ACN 500  $\mu$ L

振とう (37  $^{\circ}$ C, 1 min)

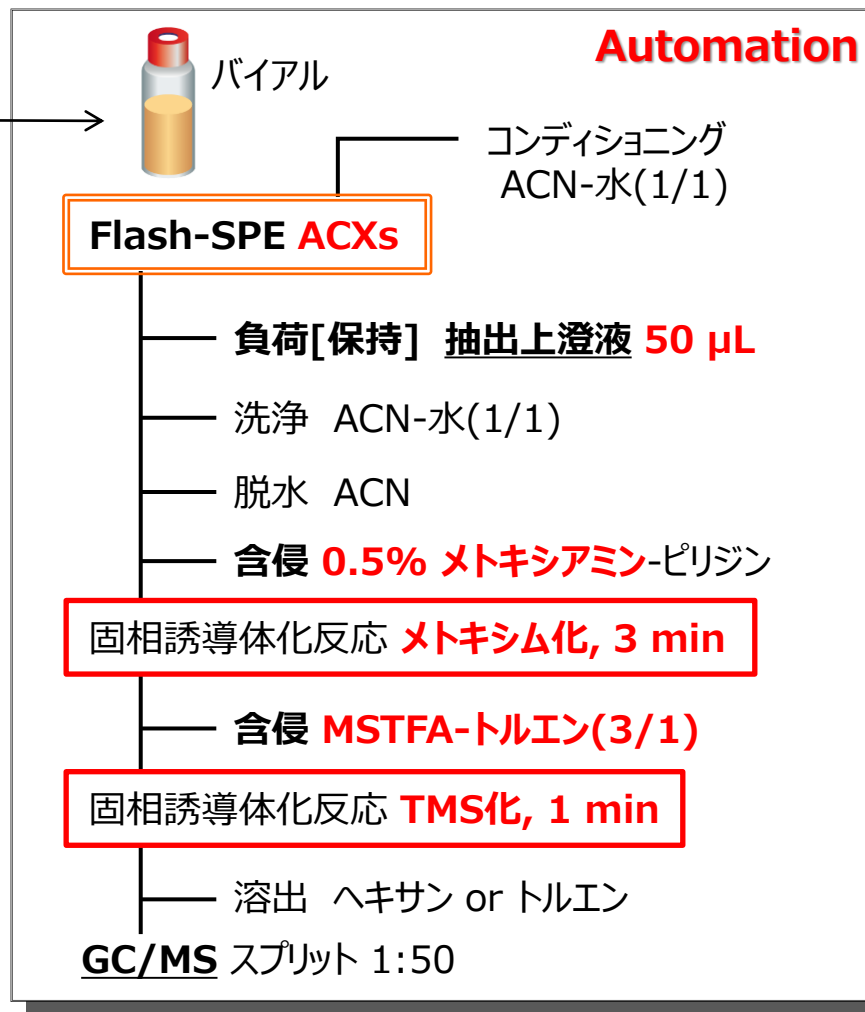
遠心分離 14000 rpm, 3 min

└─ 添加 0.1N NaOH

**抽出上澄液**



## ■ アミノ酸/有機酸



## 測定条件：アミノ酸/有機酸、糖類

---

### **SPE-GC Interface SPL-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 $\mu$ m

Oven 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

---

# 予冷式ドライアイス凍結粉碎

常温粉碎



凍結粉碎



凍結乾燥ではなく、**水分を含んだまま凍結させて粉碎する。**

食品全体の成分を均一化する。

水分を含んだ成分濃度の分析。

大がかりな装置を必要としない。

# 各農作物のSCAN-TIC

## A. ほうれん草

ホウレンソウには**シュウ酸**が多く含まれており、体内でカルシウムと結合し腎臓や尿路に結石を引き起こすことがある。

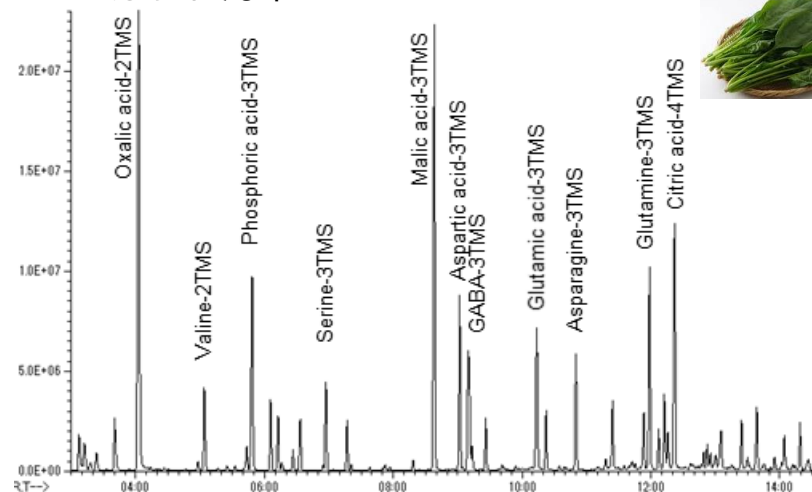
## B. トマト

**グルタミン酸**の濃度が非常に高いためうま味があること、**酸味**・水分があることから、ケチャップ、トマトソース、ピザソースなどに用いられる。

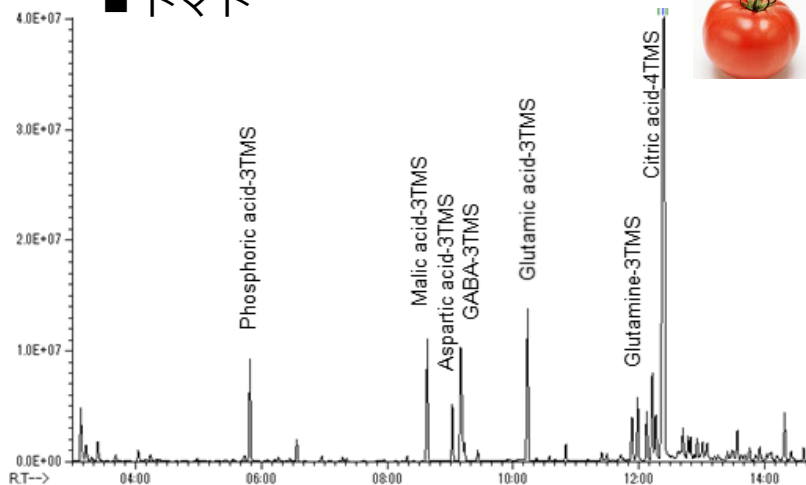
## C. うめ

強い酸味が特徴であり、**クエン酸**をはじめとする**有機酸**などを多く含む。

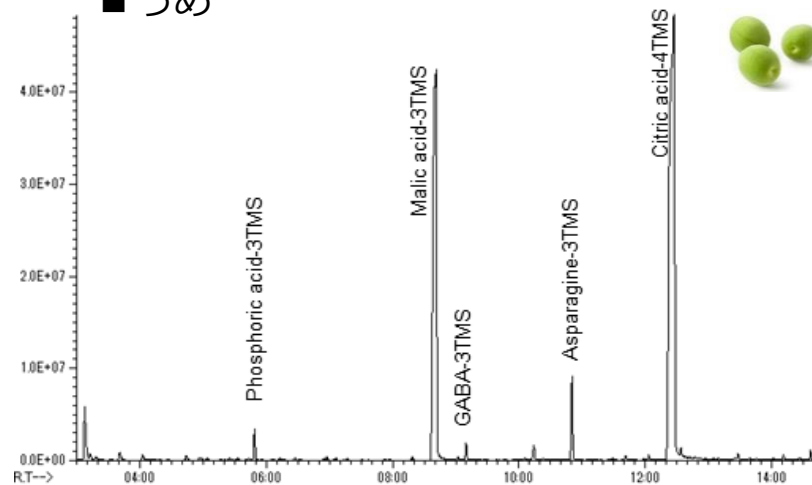
### ■ ほうれん草



### ■ トマト



### ■ うめ





# 各農作物の成分量比較



# ほうれん草 調理の分量比較

## ■ 調理

- 生
- 煮た葉
- 煮汁

## ■ 対象成分

- ◆ アミノ酸／有機酸／等

## ほうれん草

ほうれん草には**シュウ酸**が多く含まれており、体内でカルシウムと結合し腎臓や尿路にシュウ酸カルシウムの結石を引き起こすことがある。また、**シュウ酸**は水溶性であるため、多量の水で茹でこぼすことでシュウ酸を茹で汁中に溶出させるなど、生食を避け調理法を工夫する事が要される。(wikiPedia)

## 煮た葉

ほうれん草 100 g を大きく 3 分画に切り、水100mLを加え沸騰してから 3 分程煮た。その煮た葉 + 煮汁の100 gを試料とした。

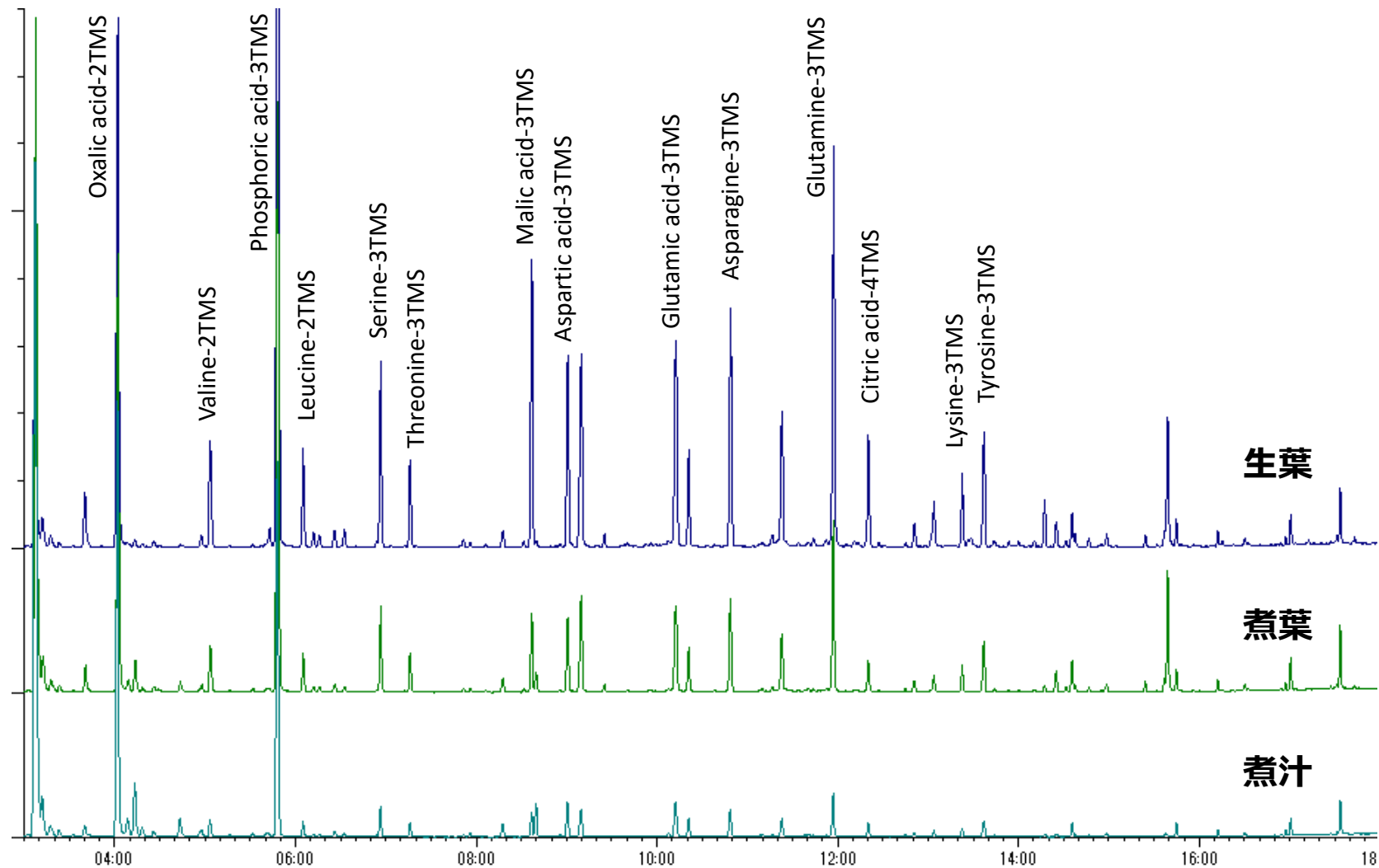
## 煮汁

上記の煮た葉を取り出した後の煮汁を試料とした。

# ほうれん草-生：再現性

No.	成分名	U1	U2	U3	U4	U5	U6	Ave.	RSD, %
2	Alanine-2TMS	2,705,765	2,625,243	2,661,635	2,613,090	2,563,111	2,522,121	2,615,161	2.5
3	Oxalic acid-2TMS	21,958,314	21,851,090	21,894,348	22,511,436	21,642,163	21,152,779	21,835,022	2.0
5	Malonic acid-2TMS	548,802	512,489	526,249	519,043	526,234	560,334	532,192	3.5
6	Valine-2TMS	4,606,428	4,497,232	4,519,964	4,488,579	4,370,621	4,330,268	4,468,849	2.3
8	Leucine-2TMS	3,949,838	3,823,120	3,869,338	3,815,906	3,775,518	3,506,105	3,789,971	4.0
9	Isoleucine-2TMS	3,815,850	3,746,055	3,773,535	3,748,879	3,647,235	3,642,443	3,729,000	1.9
10	Proline-2TMS	722,955	701,361	703,837	693,309	677,892	656,913	692,711	3.3
11	Glycine-3TMS	311,795	300,133	304,260	291,269	293,179	271,290	295,321	4.7
13	Succinic acid-2TMS	686,713	683,285	686,428	692,873	682,757	675,948	684,667	0.8
14	Fumaric acid-2TMS	142,760	142,743	148,768	147,353	140,625	139,958	143,701	2.5
15	Serine-3TMS	3,965,989	3,691,721	3,774,761	3,724,560	3,590,127	3,663,876	3,735,172	3.4
16	Threonine-3TMS	602,931	560,277	568,682	558,021	542,283	550,970	563,861	3.7
17	Malic acid-3TMS	1,584,318	1,575,211	1,591,829	1,609,113	1,555,666	1,566,658	1,580,466	1.2
19	Aspartic acid-3TMS	4,528,602	4,434,587	4,423,349	4,546,915	4,327,986	4,393,956	4,442,566	1.9
20	Methionine-2TMS	53,844	57,581	57,174	46,740	55,391	50,128	53,476	8.0
22	GABA-3TMS	442,631	435,615	443,665	423,246	417,886	397,142	426,698	4.2
24	Threonic acid-4TMS	111,636	103,963	109,708	112,379	106,450	117,600	110,289	4.3
25	Ketoglutaric acid-MO-2TMS	4,372	4,620	5,300	5,080	4,489	4,590	4,742	7.7
26	Glutamic acid-3TMS	4,609,844	4,600,117	4,559,014	4,622,500	4,452,911	4,616,932	4,576,886	1.4
27	Phenylalanine-2TMS	1,525,816	1,487,573	1,505,821	1,508,921	1,441,017	1,419,540	1,481,448	2.8
29	Asparagine-3TMS	1,993,942	1,800,771	1,838,868	1,826,318	1,806,007	1,968,777	1,872,447	4.6
30	Putrescine-4TMS	100,127	90,218	92,879	94,574	87,116	79,290	90,701	7.8
31	Shikimic acid-4TMS	23,913	20,946	22,909	22,988	21,733	20,749	22,206	5.7
32	Citric acid-4TMS	480,734	471,479	470,472	476,376	461,721	453,838	469,103	2.1
34	Adenine-2TMS	32,888	28,552	26,642	27,283	25,239	24,364	27,495	11.0
35	Lysine-4TMS	1,086,746	1,036,401	1,065,106	1,021,094	1,015,699	926,104	1,025,192	5.4
36	Histidine-3TMS	309,715	305,531	314,436	317,818	296,923	287,021	305,241	3.8
37	Tyrosine-3TMS	3,660,407	3,522,793	3,549,047	3,567,762	3,463,739	3,332,989	3,516,123	3.1
40	Tryptophan-3TMS	138,662	133,594	136,100	134,166	131,844	134,228	134,766	1.7
43	Adenosine-4TMS	54,504	52,592	57,398	54,370	52,774	51,431	53,845	3.9

# 調理による成分量：SCANクロマトグラム比較



# 調理による成分量比較



# 2段階試料負荷による野菜ジュースの分析

## ■ アミノ酸/有機酸/糖類 Automation

試料採取 野菜ジュース 50  $\mu\text{L}$

添加水 150  $\mu\text{L}$   
手振とう

添加 ACN 800  $\mu\text{L}$

振とう (37  $^{\circ}\text{C}$ , 1 min)

遠心分離 14000 rpm, 3 min

添加 0.1N NaOH

抽出上澄液



1回目負荷

2回目負荷

Flash-SPE ACXs

コンディショニング  
ACN-水(1/1)

負荷[保持] 抽出上澄液 40  $\mu\text{L}$

洗浄 ACN-水(1/1)

脱水 ACN

負荷[保持] 抽出上澄液 3  $\mu\text{L}$

混合 ACN

脱水 ACN

含浸 10% メトキシアミン-ピリジン

固相誘導体化反応 メトキシ化, 15 min

含浸 MSTFA-トルエン(3/1)

固相誘導体化反応 TMS化, 1 min

溶出 ヘキサン or トルエン

GC/MS スプリット 1:50

# 野菜ジュースのSCAN-TIC

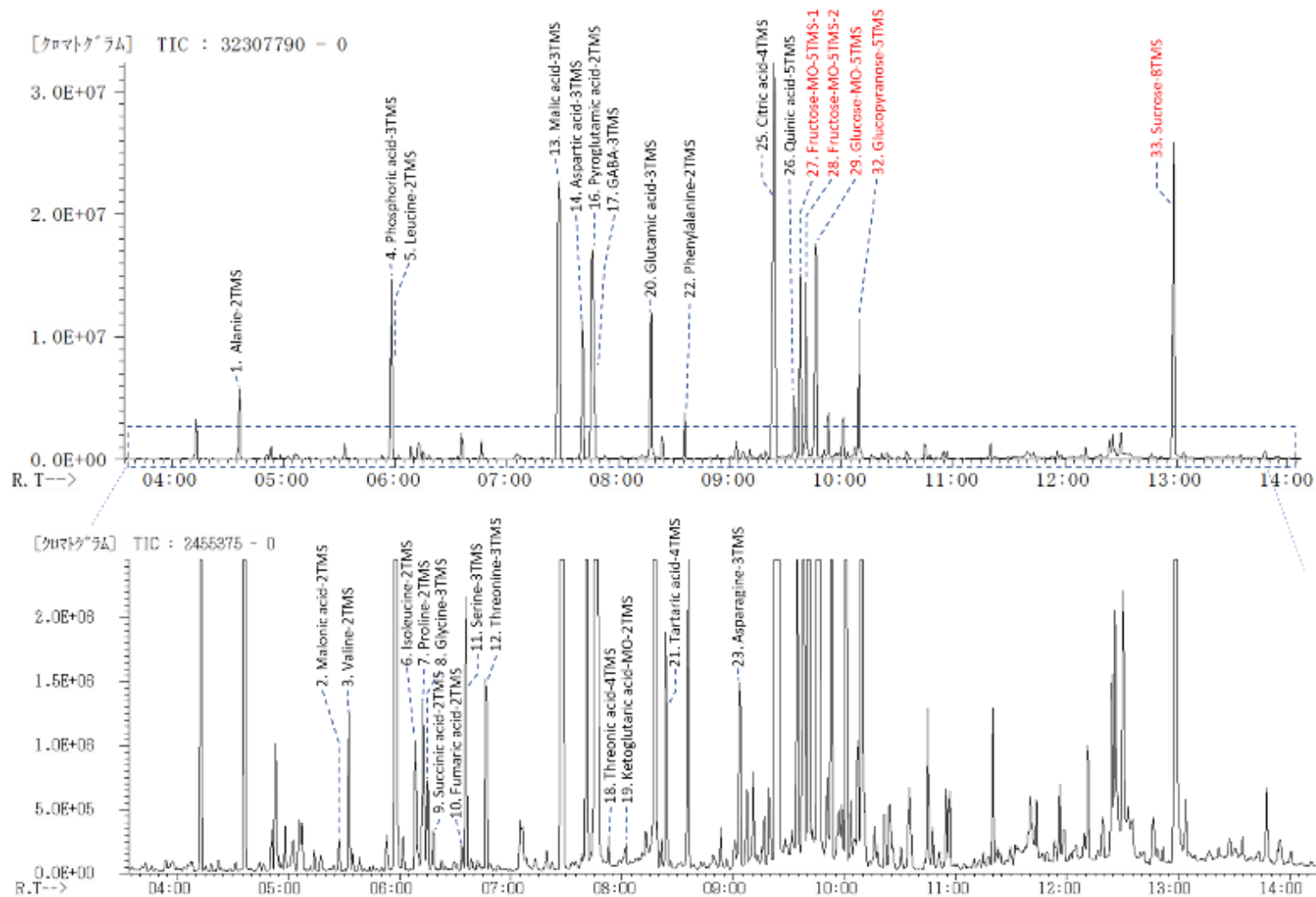


Fig. 4. The SCAN total ion chromatogram of the Vegetable juice using SPE-GC-MS system with automated solid-phase derivatization method

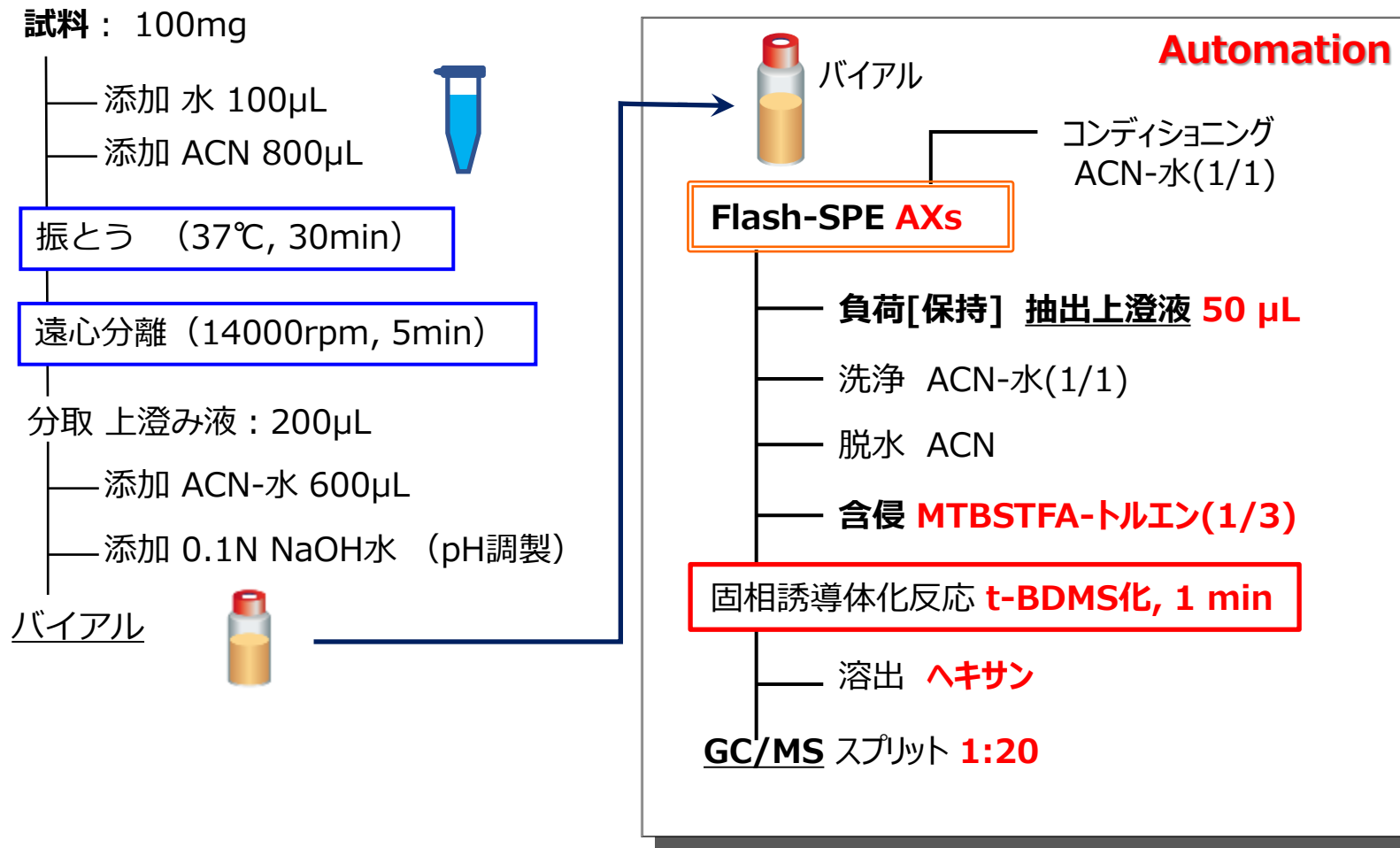
# 野菜ジュースの連続分析による再現性

No.	Compound Name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Ave.	RSD, %
1	Alanine-2TMS	309,232	299,640	318,036	318,842	315,043	272,857	305,730	295,444	309,714	304,949	4.7
2	Malonic acid-2TMS	208,582	189,833	201,318	217,085	216,140	198,379	203,238	191,479	216,319	204,708	5.1
3	Valine-2TMS	960,530	944,208	939,079	970,635	985,122	871,585	898,551	909,080	936,718	935,056	3.9
4	Phosphoric acid-3TMS	1,756,612	1,694,987	1,784,167	1,836,775	1,827,143	1,660,757	1,749,686	1,702,251	1,751,900	1,751,586	3.4
5	Leucine-2TMS	601,172	586,871	587,744	600,653	621,488	554,859	570,432	575,573	591,554	587,816	3.3
6	Isoleucine-2TMS	751,499	747,502	736,942	752,151	779,765	699,042	711,541	729,201	735,950	738,177	3.2
7	Proline-2TMS	1,288,714	1,218,445	1,407,490	1,334,588	1,329,392	1,081,513	1,375,465	1,312,913	1,363,408	1,301,325	7.6
8	Glycine-3TMS	89,045	87,017	98,592	92,452	90,010	76,391	89,074	90,300	87,304	88,909	6.6
9	Succinic acid-2TMS	29,739	23,133	30,237	30,525	32,616	27,129	30,293	31,474	36,726	30,208	12.3
10	Fumaric acid-2TMS	128,060	116,140	131,005	130,524	133,252	112,729	119,974	120,408	127,689	124,420	5.8
11	Serine-3TMS	650,133	583,530	750,466	657,756	637,197	485,637	728,192	630,276	663,495	642,965	12.0
12	Threonine-3TMS	406,488	364,652	467,699	416,534	389,974	305,476	454,202	398,677	419,286	402,554	11.9
13	Malic acid-3TMS	658,012	606,845	674,655	676,875	692,215	610,983	640,943	619,416	648,554	647,611	4.7
14	Aspartic acid-3TMS	1,305,807	1,129,009	1,373,062	1,371,520	1,304,608	1,072,929	1,342,124	1,251,515	1,296,873	1,271,939	8.3
15	Methionine-2TMS	76,880	73,494	82,248	83,206	78,838	65,815	76,409	73,669	75,318	76,209	6.8
16	Pyroglutamic acid-2TMS	1,507,913	1,201,840	1,508,232	1,481,026	1,448,978	1,264,946	1,557,010	1,514,768	1,629,979	1,457,188	9.4
17	GABA-3TMS	2,542,372	2,602,287	2,557,843	2,512,557	2,552,924	2,315,690	2,411,967	2,436,148	2,323,088	2,472,764	4.3
18	Threonic acid-4TMS	55,285	43,538	51,469	55,132	54,195	49,244	51,484	53,862	55,673	52,209	7.5
19	Ketoglutaric acid-MO-2TMS	17,868	16,102	17,882	18,944	18,368	15,912	17,310	16,945	17,930	17,473	5.8
20	Glutamic acid-3TMS	525,855	477,961	611,719	553,865	537,058	439,154	582,209	560,490	546,821	537,237	9.7
21	Tartaric acid-4TMS	43,340	41,410	44,526	46,738	47,503	40,921	42,245	43,569	43,327	43,731	5.1
22	Phenylalanine-2TMS	667,786	660,171	690,655	684,132	684,002	602,503	633,106	627,284	647,507	655,238	4.6
23	Asparagine-3TMS	759,004	647,104	1,084,240	847,659	721,506	553,957	1,014,838	837,951	868,853	815,012	20.6
24	Isocitric lactone-2TMS	66,484	63,382	67,778	68,936	68,584	60,753	63,586	62,133	66,714	65,372	4.6
25	Citric acid-4TMS	460,310	456,724	467,157	481,998	463,505	460,047	457,736	460,394	468,343	464,024	1.7
26	Quinic acid-5TMS	692,038	529,048	618,111	685,115	648,835	570,799	644,134	648,984	666,745	633,757	8.4
27	Fructose-MO-5TMS-1	3,108,238	2,916,943	3,214,863	3,135,053	3,159,948	2,827,150	2,875,550	2,909,797	2,913,831	3,006,819	4.8
28	Fructose-MO-5TMS-2	2,884,998	2,685,101	2,949,573	2,872,898	2,970,960	2,573,463	2,635,856	2,652,894	2,688,086	2,768,203	5.4
29	Glucose-MO-5TMS	1,613,724	1,529,616	1,776,368	1,671,418	1,741,960	1,497,934	1,591,229	1,555,306	1,687,477	1,629,448	5.9
30	Lysine-4TMS	82,260	80,636	79,743	69,404	74,609	61,603	59,487	67,651	59,038	70,492	13.1
31	Tyrosine-3TMS	335,744	328,502	351,046	317,751	323,455	259,785	261,555	278,977	273,981	303,422	11.5
32	Glucopyranose-5TMS	5,311,786	5,344,811	5,382,340	5,076,072	5,775,920	4,674,815	4,834,295	4,901,459	5,476,152	5,197,517	6.8
33	Sucrose-8TMS	862,302	881,842	910,611	862,117	947,902	801,334	863,685	847,403	911,865	876,562	4.9

**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。



# ブルーチーズの t-BDMS誘導体化による分析



## 測定条件：短鎖脂肪酸

---

### **SPE-GC Interface SPL-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

---

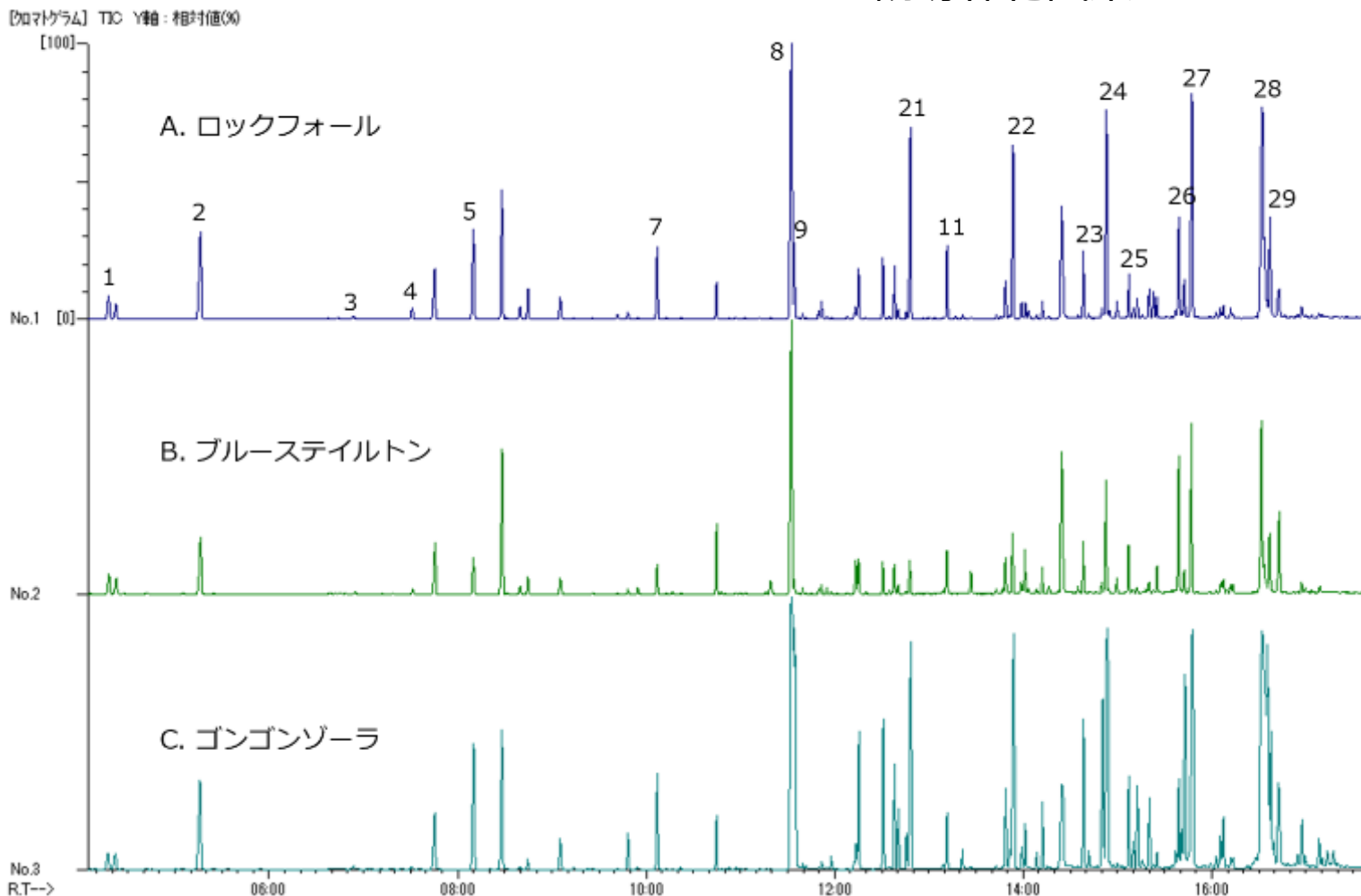
# ブルーチーズ3種のSCANトータルイオンクロマトグラム比較

誘導體化試薬：MTBSTFA

試料：ブルーチーズ3種



C B A



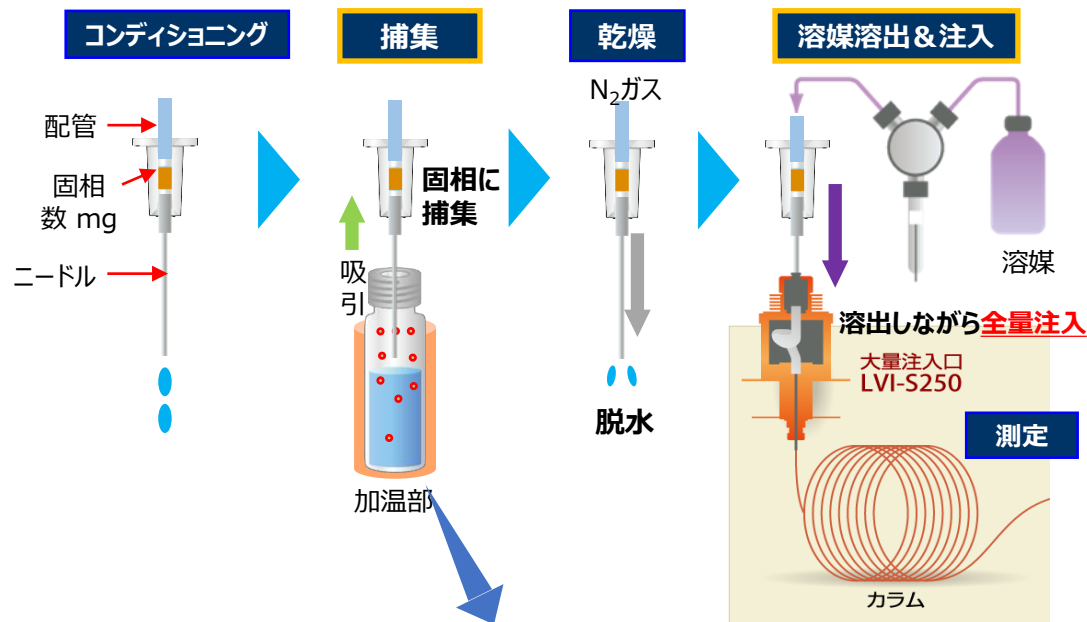
- 1 Formic acid-tBDMS
- 2 Acetic acid-tBDMS
- 3 Propionic acid-tBDMS
- 4 Butyric acid-tBDMS
- 5 Valeric acid-tBDMS
- 7 Enanthic acid-tBDMS
- 8 Lactic acid-2tBDMS
- 9 Octanoic acid-tBDMS
- 11 Succinic acid-2tBDMS
- 21 Decanoic acid-tBDMS
- 22 Dodecanic acid-tBDMS
- 24 Tetradecanoic acid-tBDMS
- 25 Aspartic acid-3tBDMS
- 26 Glutamic acid-3tBDMS
- 27 Hexadecanoic acid-tBDMS
- 28 cis-9-Octadecenoic acid
- 29 Stearic acid-tBDMS

# ブルーチーズAの連続分析による再現性

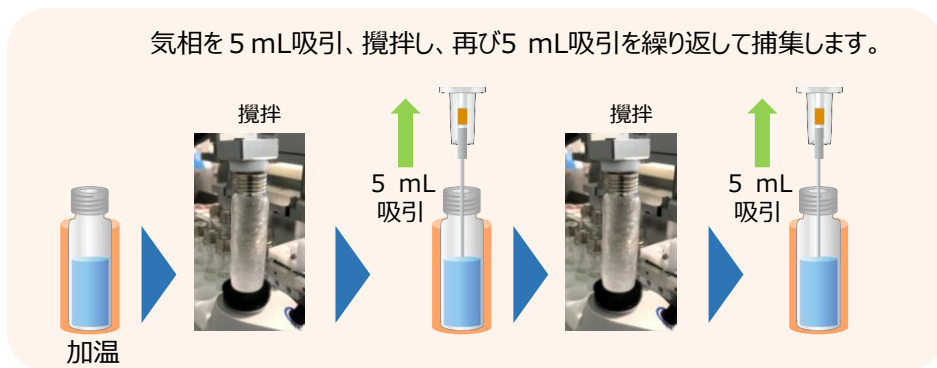
No.	化合物名	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ave.	RSD, %
1	Methanoic acid-tBDMS	5,662,335	6,087,241	6,025,118	5,973,966	6,068,586	5,802,239	6,134,522	6,101,179	5,798,742	5,777,380	5,943,131	2.8
2	Ethanoic acid-tBDMS	18,770,224	20,146,848	19,677,295	20,067,483	20,422,968	19,469,683	21,313,154	20,143,063	20,431,335	20,147,390	20,058,944	3.3
3	Propanoic acid-tBDMS	524,184	593,124	554,110	579,284	587,008	547,840	600,395	572,069	579,179	576,679	571,387	4.0
4	Butanoic acid-tBDMS	13,001,525	14,053,261	13,282,154	14,064,781	14,082,758	13,297,350	14,175,957	13,582,032	13,870,275	13,807,788	13,721,788	3.0
5	Pentanoic acid-tBDMS	85,540	90,561	86,590	92,154	94,205	86,636	90,475	88,603	88,350	88,237	89,135	3.0
6	Hexanoic acid-tBDMS	885,558	909,180	860,093	962,674	948,573	900,324	908,790	901,709	906,454	902,439	908,579	3.2
7	Heptanoic acid-tBDMS	108,089	106,675	100,268	116,243	111,757	107,815	107,017	108,204	106,638	107,850	108,056	3.7
8	Lactic acid-2tBDMS	2,937,700	2,896,698	2,933,690	3,024,671	3,004,121	3,016,702	3,054,493	2,995,071	3,028,298	2,984,398	2,987,584	1.7
9	Octanoic acid-tBDMS	7,698,998	7,401,664	7,429,620	8,050,950	7,874,511	7,738,806	7,568,072	7,785,579	7,625,665	7,743,874	7,691,774	2.6
10	Maleic acid-2tBDMS	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	Succinic acid-2tBDMS	930,429	907,160	953,785	962,154	959,702	976,303	951,261	990,590	989,084	993,676	961,414	2.9
12	Fumaric acid-2tBDMS	97,015	95,707	107,631	99,765	108,764	114,054	109,247	116,137	106,451	101,762	105,653	6.5
13	Malic acid-3tBDMS	168,152	158,283	162,771	167,983	158,269	167,363	170,771	181,388	176,893	177,783	168,966	4.7
14	a-Ketoglutaric acid-3tBDMS	63,206	55,231	60,496	63,380	59,289	61,575	59,891	64,924	70,249	65,135	62,338	6.5
15	Tartaric acid-4tBDMS	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16	Citric acid-4tBDMS	20,400	16,533	19,185	20,289	18,807	19,405	18,888	20,926	20,037	18,756	19,323	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。

# オンライン固相捕集-溶媒溶出法



【捕集方法】



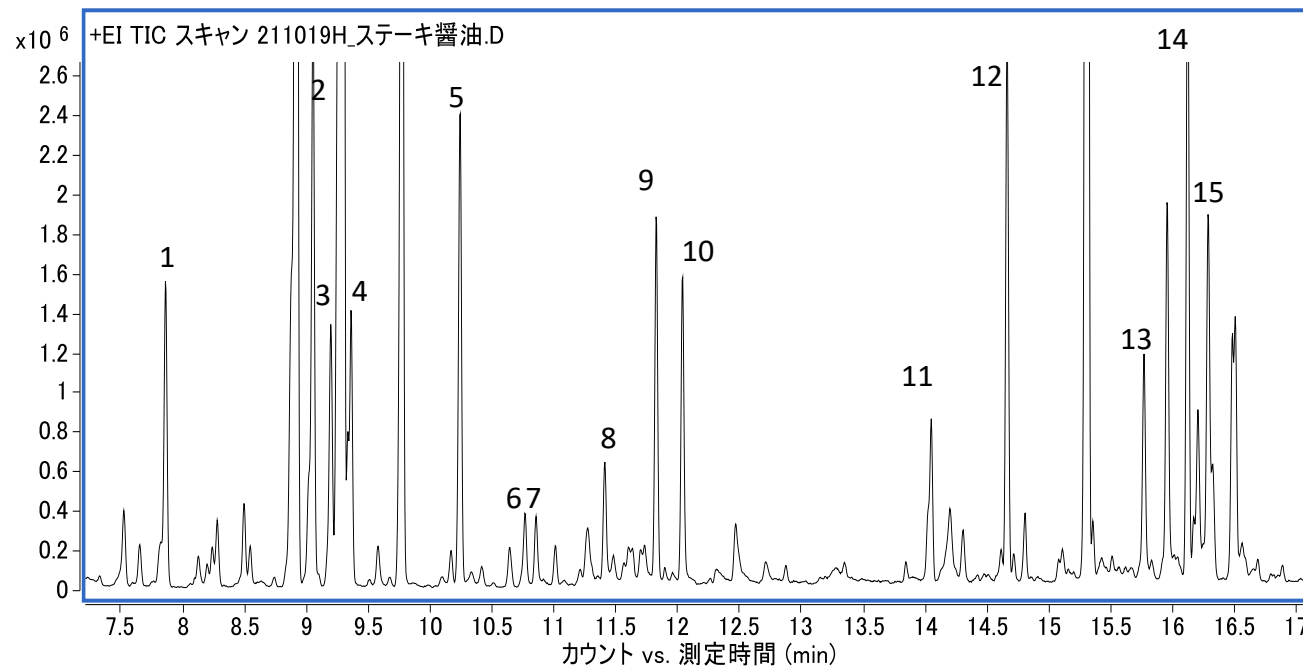
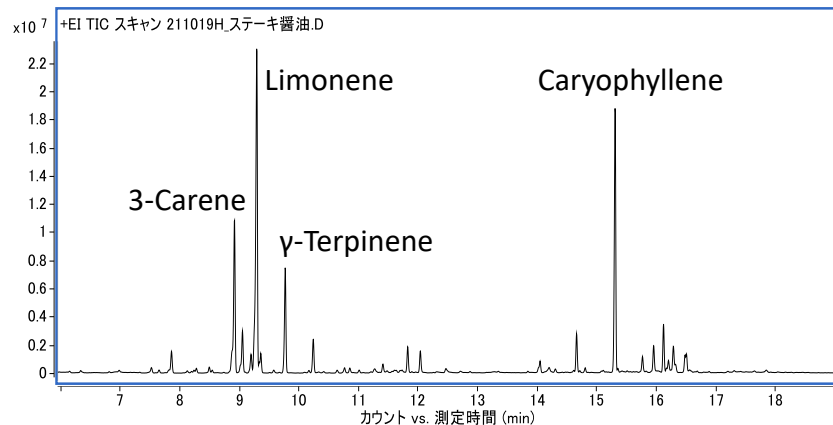
固相からの溶出液をGCに全量導入するオンラインSPE-GC/MSシステムによる**新しい固相捕集-溶媒抽出法**を開発した。

- 迅速に気相を一定量捕集可能。
- 熱に弱い成分を分析可能。
- 気相中の水分を除去可能。
- オンサイトサンプリングが可能。
- 誘導体化が可能。

**前処理時間14分**

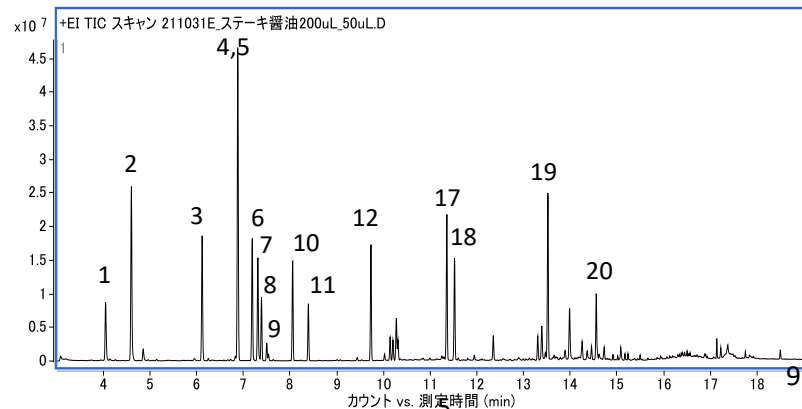
- ① 試料を一定時間加温 (50℃)
- ② 固相を溶媒でコンディショニング
- ③ 窒素ガスで固相を乾燥
- ④ 試料を一定時間攪拌
- ⑤ 試料の気相を固相に一定量吸引
- ⑥ 窒素ガスで固相を乾燥
- ⑦ 注入口へニードルを挿入
- ⑧ 目的物質を溶媒で固相から溶出させながらGCへ全量注入。

# ステーク醤油：におい分析

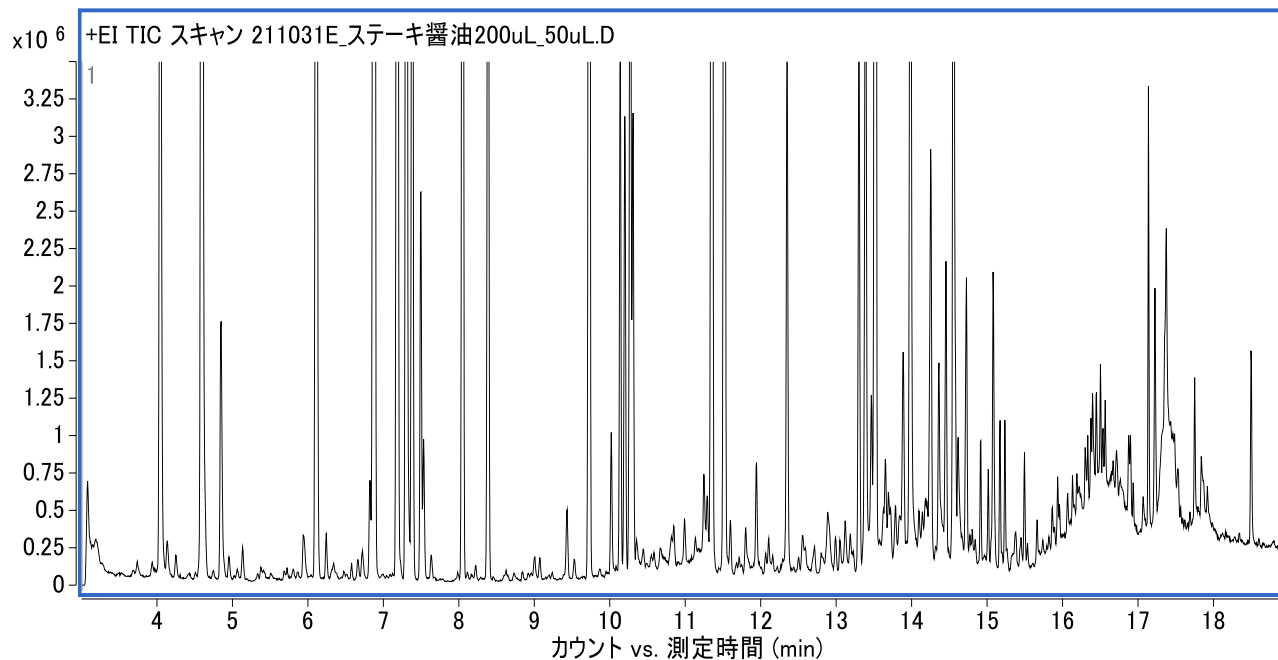


1. Camphene
2. Terpinolene
3. Cymene
4. Eucalyptol
5. Terpinolene
6. 1-Allyl-2-isopropylsulfane
7. Fenchol
8. Trisulfide, methyl propyl
9. 4-terpineol
10. Terpineol
11. Elemene
12. Copaene
13. Humulene
14. Zingiberene
15. Bisabolene

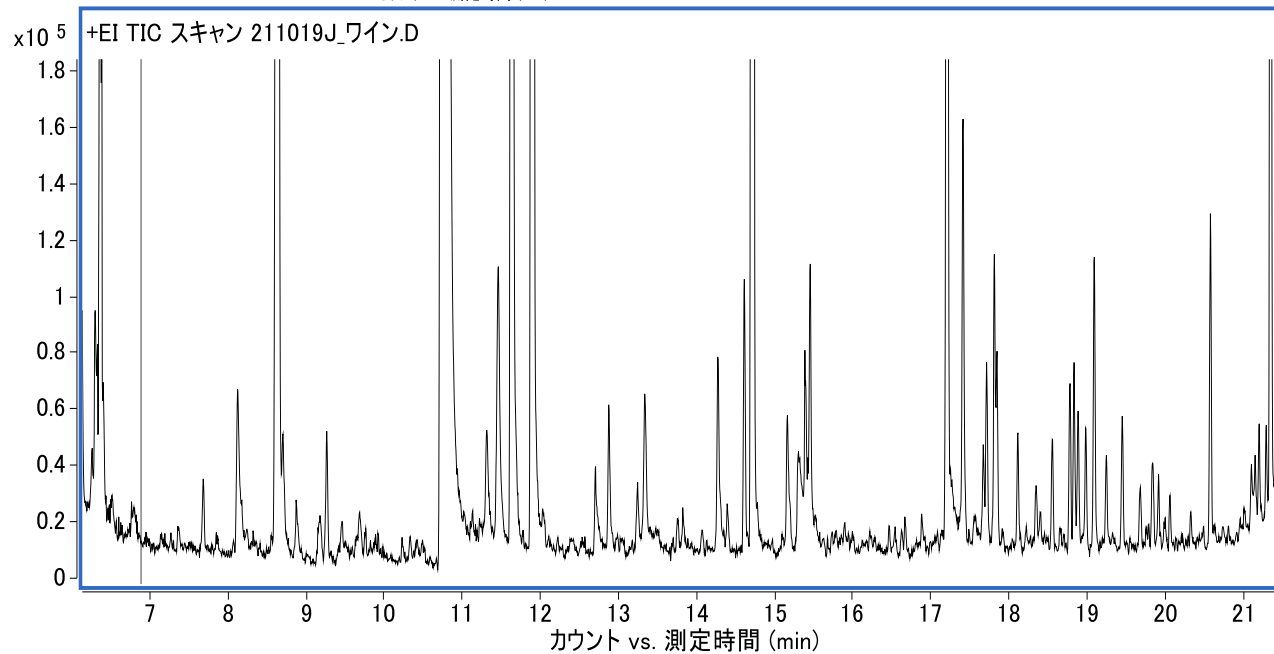
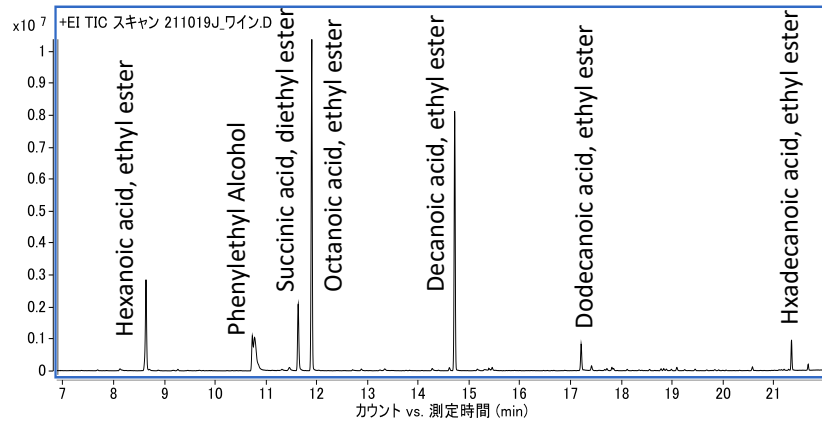
# ステーキ醬油：アミノ酸/有機酸分析



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

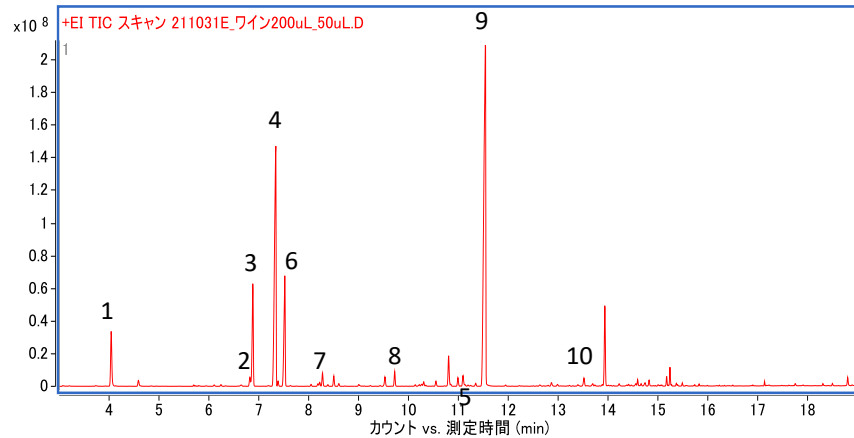


# ワイン : におい分析

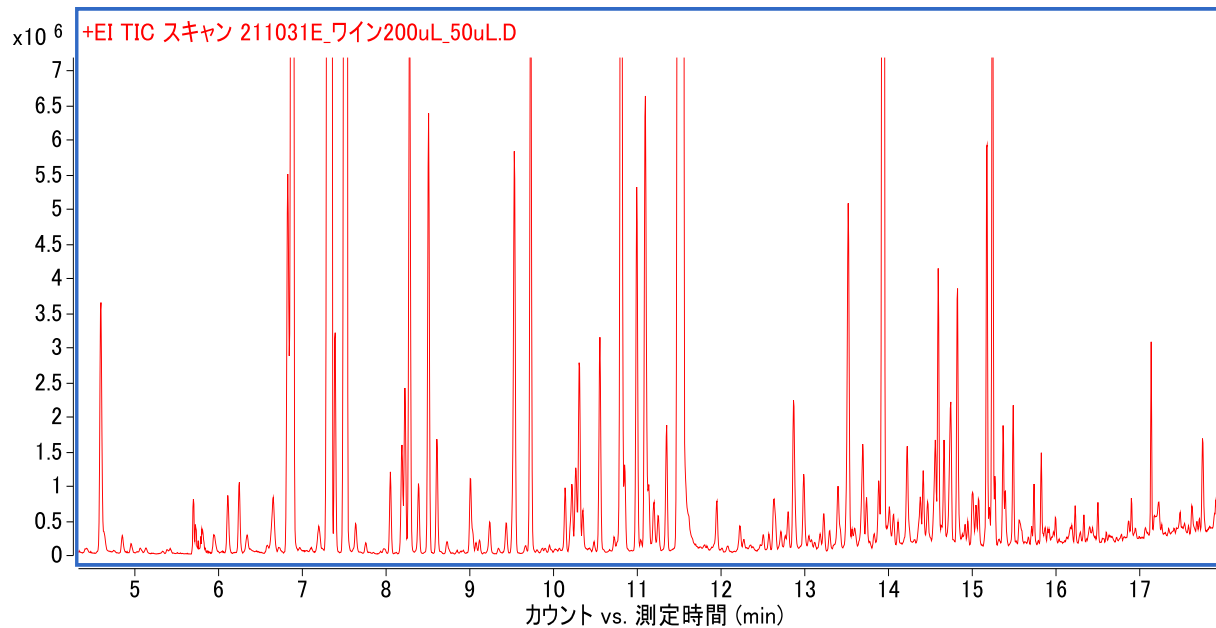




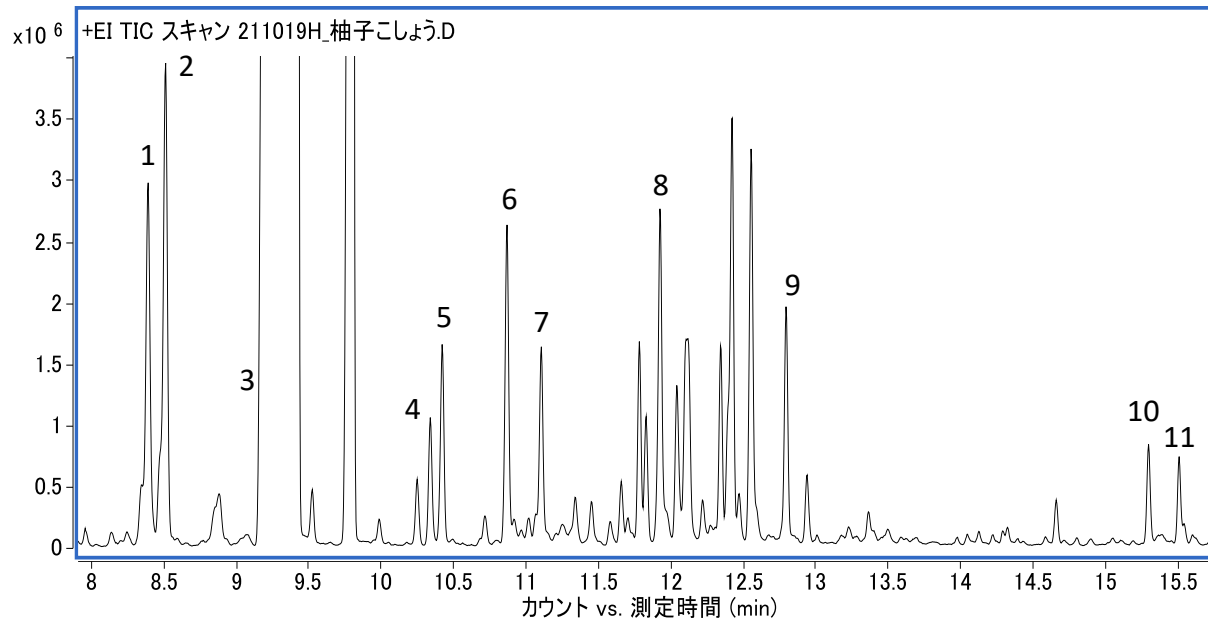
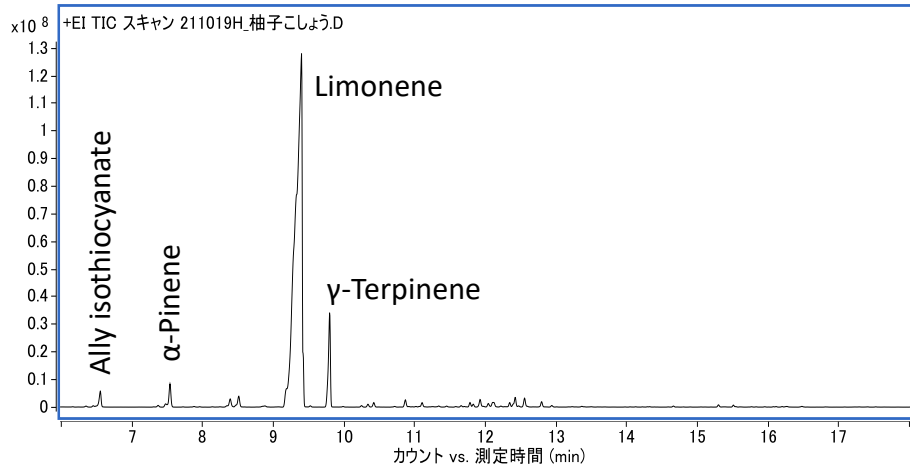
# ワイン：アミノ酸有機酸分析



1. Lactic acid-2TMS
2. Ethanolamine-3TMS
3. Phosphoric acid-3TMS
4. Proline-2TMS
5. Glycine-3TMS
6. Succinic acid-2TMS
7. Serine-3TMS
8. Malic acid-3TMS
9. Tartaric acid-4TMS
10. Citric acid-4TMS

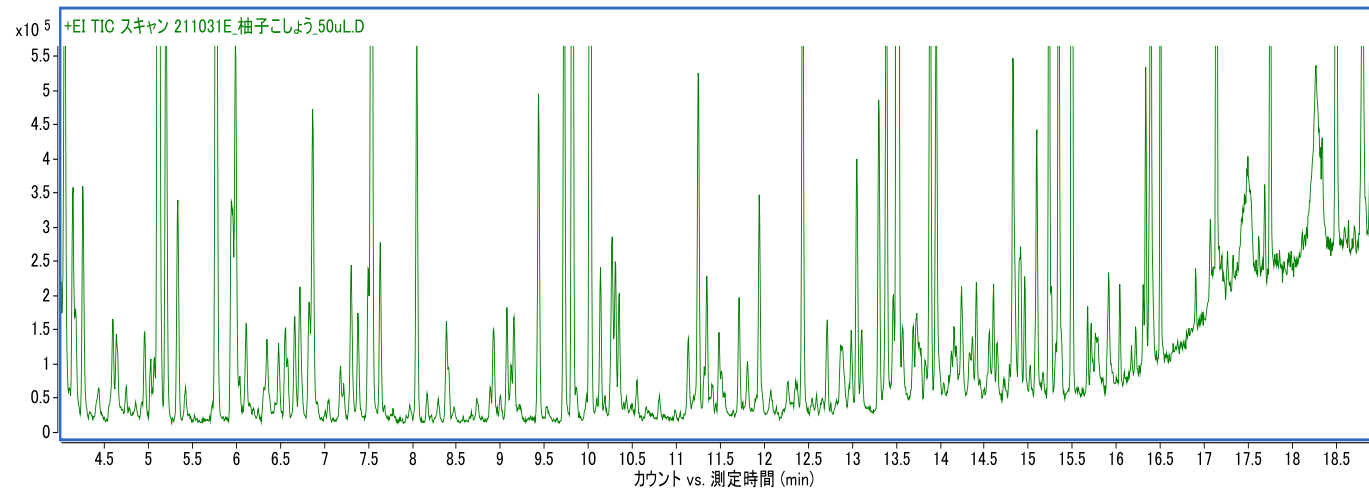
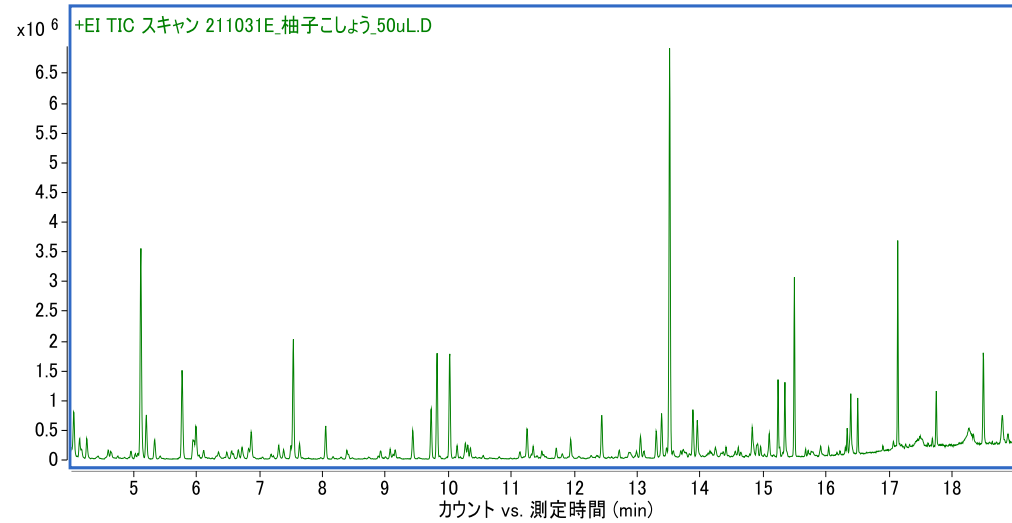


# 柚子胡椒：におい分析



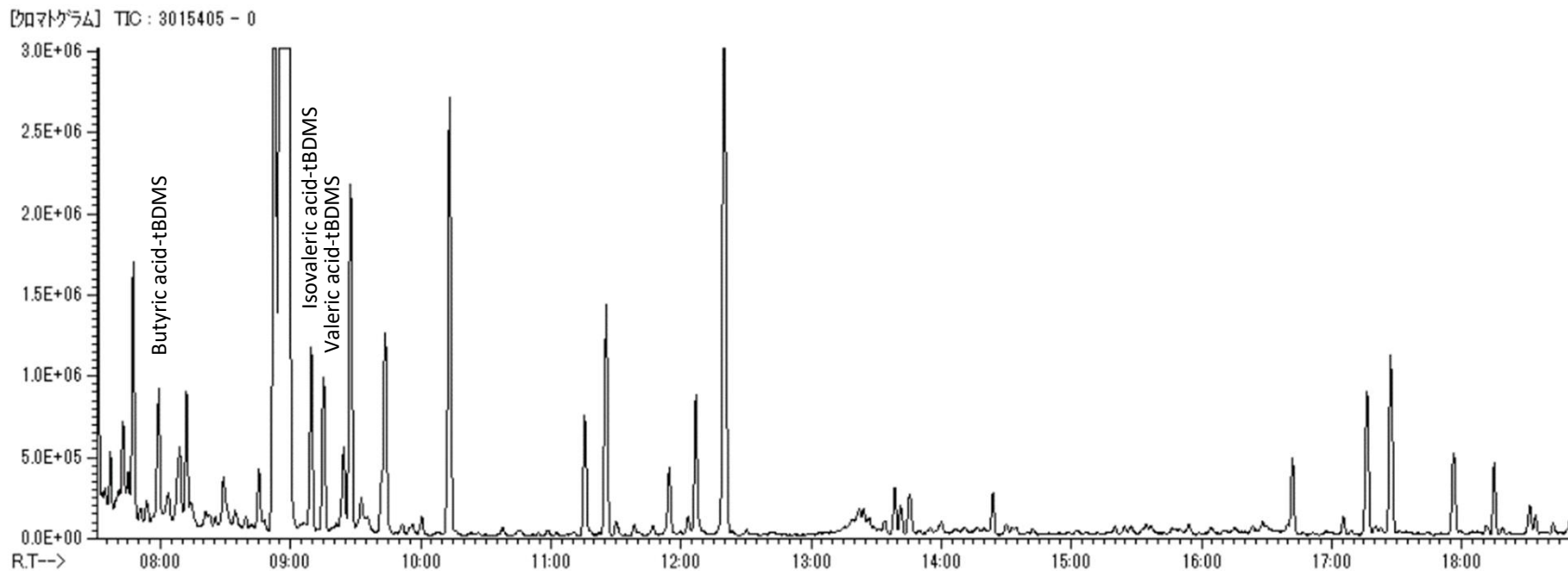
1.  $\beta$ -Pinene
2. Myrcene
3. o-Cymene
4. p-Cymene
5. Linalool
6. Mentha-2,8-dienol
7. Mentha-2,8-dienol
8. Isocarveol
9. Carvone
10. Caryophyllene
11. Famesene

# 柚子胡椒：アミノ酸有機酸分析



# 納豆：におい-誘導体化分析

誘導体化試薬 MTBSTFAを溶出溶媒に混液させて、t-BDMS化を行った。



# オンラインSPE-GCシステム

## SPL-M100FE

メタボローム分析（アミノ酸 / 有機酸 / 糖など）のみならず、**におい分析**にも対応！

メタボローム  
+におい分析



アミノ酸

有機酸

単鎖脂肪酸

核酸塩基

糖類



におい分析

# 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！