

# 高速GC/MS【Intuvo9000GC-5977MSD】と オンライン固相誘導体化を用いたメタボローム分析の最適化

## 2)アミノ酸・有機酸

### はじめに

従来GC/MSにおけるメタボローム分析は、サンプルの抽出後、乾固に4時間～1晩、誘導体化に2時間を要していましたが、オンライン固相誘導体化を使うことで前処理時間が飛躍的に短縮でき、誘導体化からGC/MSの分析までの時間が一定化され、安定したデータ取得が期待されます。

また、GC/MSにおいては、前処理の高速化に合わせ、高速分析が可能かつ初心者でも扱いやすい装置が望まれます。今回、オンライン固相誘導体化装置SPL-M100と高速分析が可能なIntuvo 9000GCとシングル四重極5977B MSDを接続したシステムでアミノ酸、有機酸の分析条件の最適化を行いました。

### 分析装置

#### 高速GC/MS・ オンライン固相誘導体化システム



Intuvo 9000GCと5977B MS  
およびSPL-M100

#### メリット

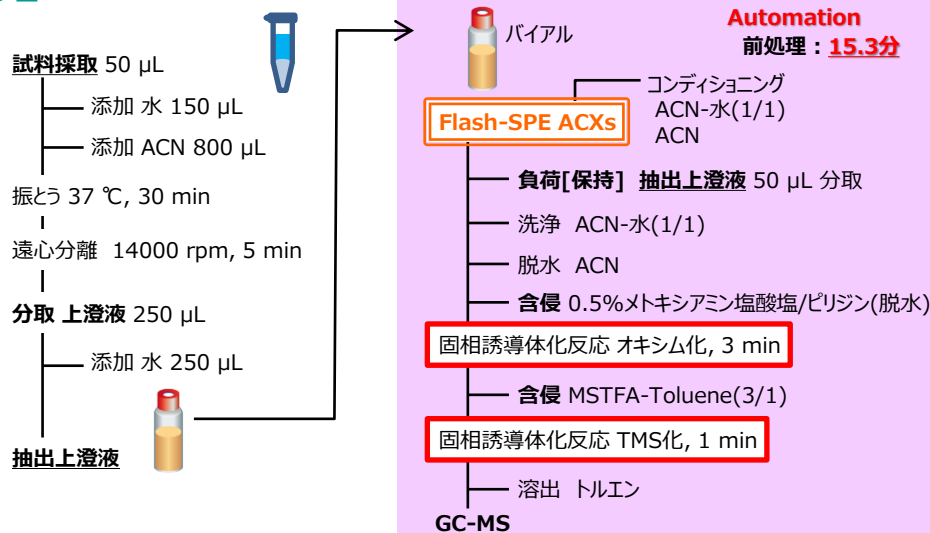
##### 【Intuvo9000GC】

- ・高速分析可能
- ・取扱が容易

##### 【SPL-M100】

- ・前処理時間は飛躍的に短縮
- ・誘導体化から分析までの時間が一定化

### 前処理フロー



### 測定条件

#### GC Intuvo9000C

カラム	DB-5MS, 15m $\times$ 0.25mm I.D., 膜厚0.25 $\mu$ m
オープン温度	80 $^{\circ}$ C(1min)-20 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C/min-310 $^{\circ}$ C(3min)(total14min)
注入口(MMI)温度	220 $^{\circ}$ C(0.5min)-70 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C
ライナー	ウルトライナー・ライナー、シングルテーパー、低圧力損失、ガラスウール入り
注入方法	スプリット (50:1)
ガードチップ温度	220 $^{\circ}$ C(0.5 min)-70 $^{\circ}$ C /min-290 $^{\circ}$ C
キャリアガス流量	1.0 mL/min (コンスタントフロー)
トランスファーライン温度	290 $^{\circ}$ C

#### MS 5977B

測定モード	スキャン (m/z 70-470)
イオン源温度	250 $^{\circ}$ C
四重極温度	150 $^{\circ}$ C



**SPL-M100**  
for SPE-GC system

### Sample



### Information

第15回 メタボロームシンポジウム  
「高速GC/MSとオンライン固相誘導体化を用いたメタボローム分析の最適化」

杉立久仁代<sup>1</sup>, 佐々野僚一<sup>2</sup>, 佐久井徳広<sup>1</sup>, 大塚剛史<sup>1</sup>, 中村貞夫<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>アジレント・テクノロジー株式会社, <sup>2</sup>株式会社アイステイサイエンス

**AiSTI SCIENCE**

### Product

オンラインSPE-GC  
**SPL-M100**

固相カートリッジ  
**Flash-SPE**

GC大量注入装置  
**LVI-S250**

株式会社アイステイサイエンス

TEL: 073-475-0033

E-mail : as@aisti.co.jp

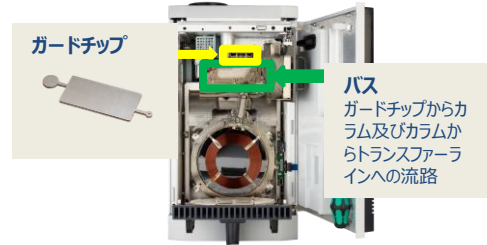
www.aisti.co.jp

## GC条件の最適化

アミノ酸、有機酸類の計50成分についてガードチップ温度とバス温度の最適化を行いました。

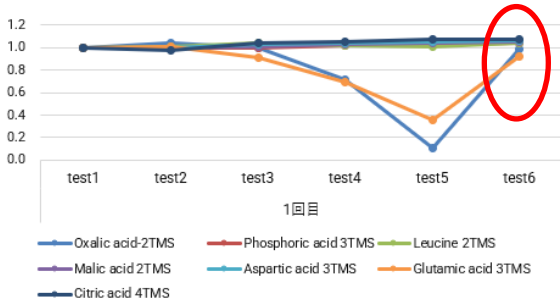
### ガードチップ温度

Test1	オープントラック 105℃(1min)-20℃/min-220℃-30℃/min-310℃
Test2	GCオープンと同じ昇温 80℃ (1min)-20℃/min-220℃-30℃/min-310℃
Test3	220℃一定
Test4	250℃一定
Test5	280℃一定
Test6	注入口と同じ昇温 220℃ (0.5min)-70℃/min-290℃



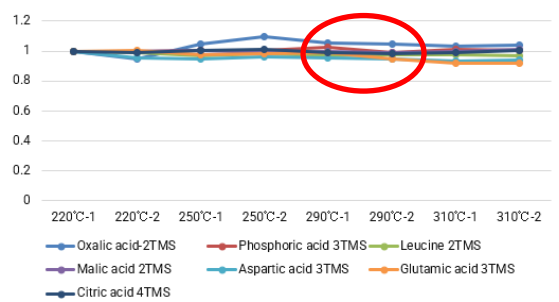
### ガードチップ温度

Oxalic acid及びGlutamic acidでは、ガードチップ温度が一定とすると高温になるほど強度が減少 (test3, 4, 5-220、250、280℃) しました。一方 test1, 2, 6では昇温することで強度の現象は抑えられ、最終的に注入口と同条件 (test6) を最適としました。



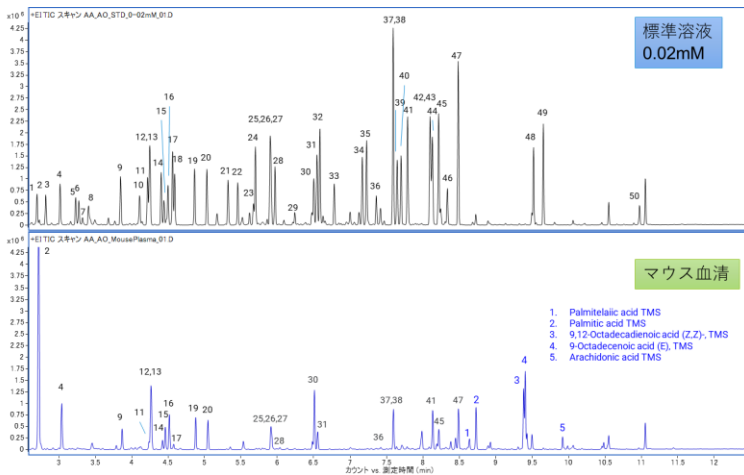
### バス温度

ガードチップ温度の影響を受けたOxalic acid及びGlutamic acidについてもバス温度はどの温度でも大差ありませんでした。そこでトランスファーラインと同じ290℃を選択しました。



## 結果と考察

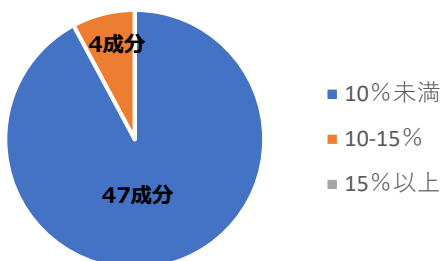
アミノ酸、有機酸の標準溶液とマウス血清を本システムで分析を行ったTICクロマトグラムとn=5の再現性を下記に示します。標準溶液、マウス血清ともにほとんどの成分でRSD10%未満の良好な再現性が得られ、高速分析の実用が可能と考えます。



- Pyruvic acid TMS
- Lactic acid 2TMS
- Glycolic acid 2TMS
- Alanine 2TMS
- Oxalic acid 2TMS
- Sarcosine 2TMS
- 3-Hydroxypropionic acid 2TMS
- 4-Hydroxypyridine TMS
- Valine 2TMS
- Benzoic acid TMS
- Ethanolamine 3TMS
- Phosphoric acid 3TMS
- Leucine 2TMS
- Isoleucine 2TMS
- Proline 2TMS
- Glycine 3TMS
- Succinic acid 2TMS
- Norleucine 2TMS
- Serine 3TMS
- Threonine 3TMS
- β-Alanine 3TMS
- Homoserine 3TMS
- Nicotinamide TMS
- Malic acid 2TMS
- Methionine 2TMS
- Aspartic acid 3TMS
- Pyroglutamic acid 2TMS
- γ-Aminobutyric acid (GABA) 3TMS
- 2-Ketoglutaric acid 2TMS
- Glutamic acid 3TMS
- Phenylalanine 2TMS
- Tartaric acid 4TMS
- Asparagine 3TMS
- Putrescine 4TMS
- cis-Aconitic acid 3TMS
- Glutamine 3TMS
- Citric acid 4TMS
- Ornithine 4TMS
- Methioninesulfone 3TMS
- Cadaverine 4TMS
- Quinic acid 5TMS
- Thyramine 3TMS
- Histidine 3TMS
- Lysine 4TMS
- Tyrosine 3TMS
- Indole-3-acetic acid 2TMS
- Gluconic acid 6TMS
- Spermidine 5TMS
- Cysteine 4TMS
- Spermine 6TMS

### 標準溶液とマウス血清の再現性(RSD) 分布

#### 標準溶液0.02mM



#### マウス血清

