

オンライン固相誘導体化SPE-GC/MSによる ビール類の成分比較

はじめに

従来のメタボロームにおけるGC/MS分析において、抽出・凍結乾燥・誘導体化に煩雑かつ長時間を要し人によるデータのばらつきがあった。そこで当社は独自技術「**固相誘導体化法**」により劇的に時短・簡易・高精度を実現した。アミノ酸や有機酸イオン交換相互作用で固相に保持し、アセトニトリルで通液することで脱水・洗浄効果が得られ、その後、**固相に保持状態で誘導体化試薬を含ませ**ることで誘導体化し溶出液をGC/MSで測定する。今回はこれらの工程を完全自動化したシステムSGI-M100を用いビール類の成分比較を試みた。

サンプル

A. ビール

麦芽の使用料が50%以上かつ副原料が5%以下

B. 第3のビール

麦芽の比率が50%未満もしくは副原料が5%を超えるものに麦芽由来のスピリッツを加えたものもしくは麦芽や麦芽以外のものを原料にしているもの

C. ノンアルコール

アルコール分を1%未満にしたもの

前処理フロー



オンライン固相誘導体化SPE-GC : SGI-M100

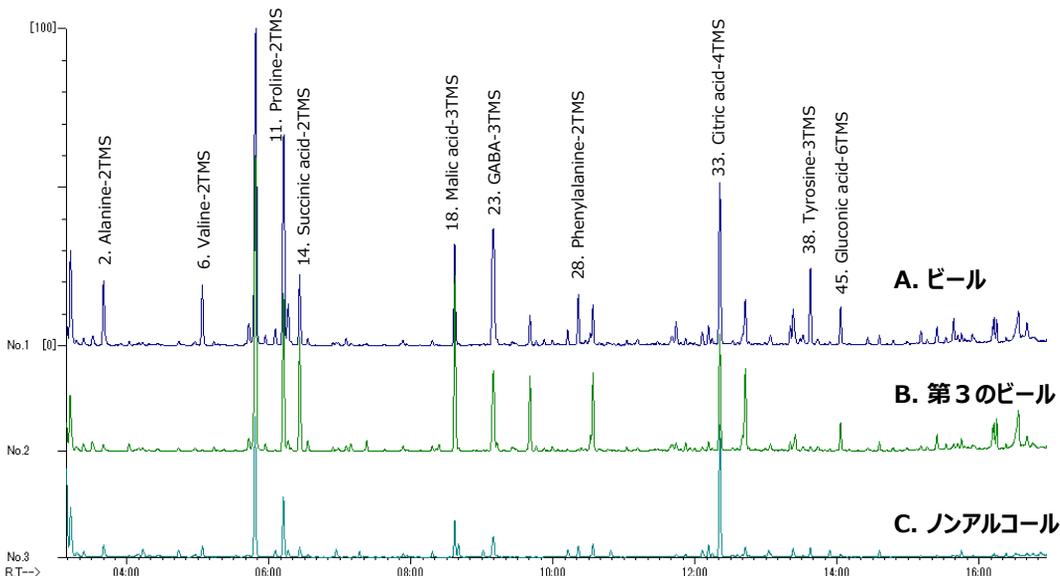


メタボローム分析用SPE-GC-MSシステム
SGI-M100 / GCMS-TQ8040NX

測定条件

PTV Injector	LVI-S250 (AiSTI Science)
Insert Type	Spiral Insert
Injector Temp.	220 $^{\circ}$ C(0.5min)-50 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C(16min)
GC-MS	
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 μ m
Oven Temp.	100 $^{\circ}$ C(2min)-10 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C/min-320 $^{\circ}$ C
Trans. Temp.	290 $^{\circ}$ C
MS Method	SCAN, m/z:70-470

■ 本法による各ビール類のSCANトータルイオンクロマトグラム比較



SGI-M100
for SPE-GC system

Sample



ビール

Information

【試料】

- ・ビール
- ・第3のビール
- ・ノンアルコール

【対象成分】

- ・アミノ酸
- ・アミン
- ・核酸塩基
- ・有機酸

Product

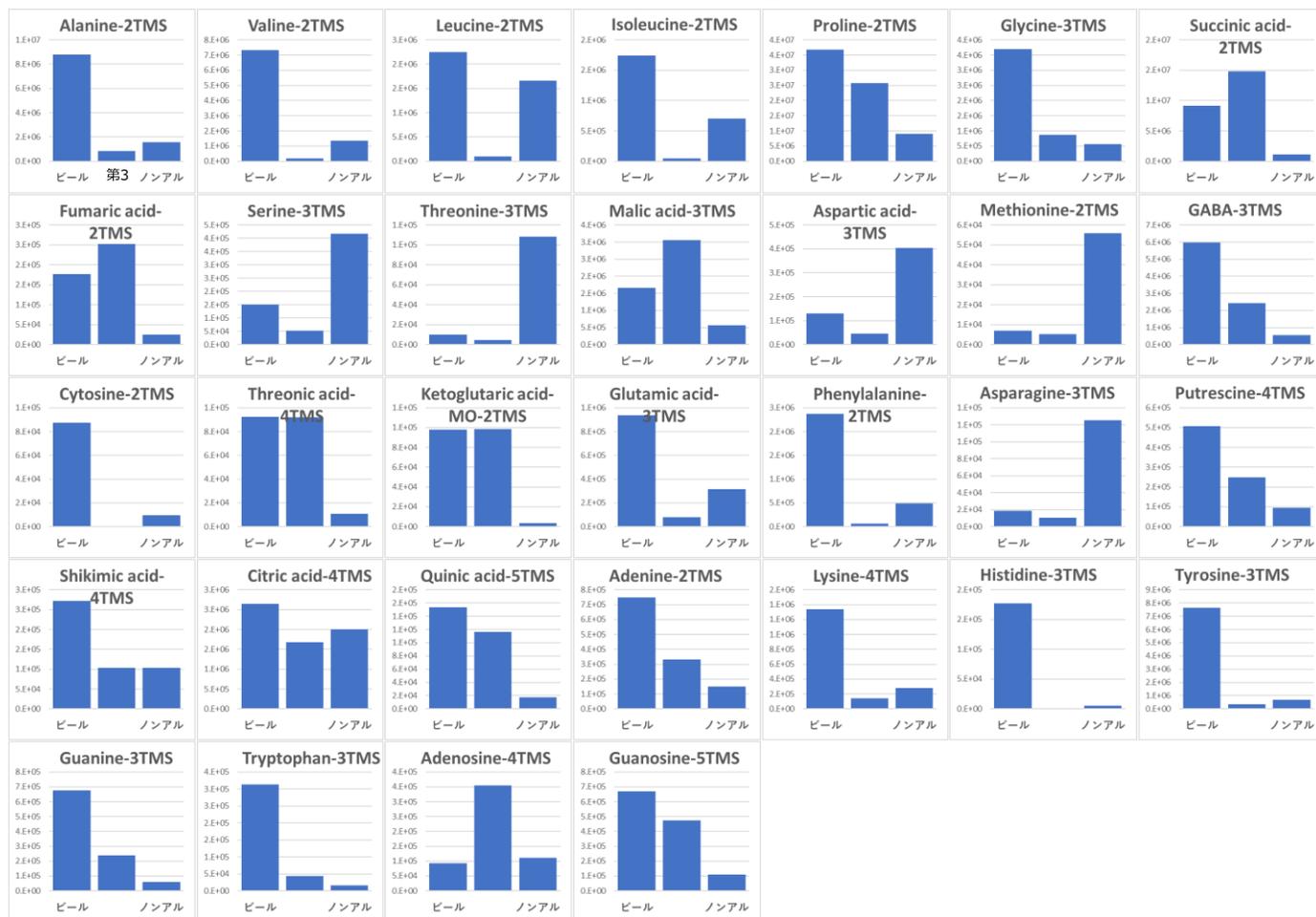
SPE-GCインターフェース
SGI-M100

固相カートリッジ
Flash-SPE

GC大量注入装置
LVI-S250

AiSTI Application Note

■ 各ビール類（ビール、第3のビール、ノンアルコール）の成分量比較



■ 本法によるビールのピーク面積値の再現性 (n=5)

No.	化合物名	1	2	3	4	5	Ave.	RSD,%
2	Alanine-2TMS	9,045,768	8,560,499	8,976,348	8,793,088	8,986,315	8,872,404	2.2
3	Oxalic acid-2TMS	435,910	386,678	455,303	423,232	421,322	424,489	5.9
5	Malonic acid-2TMS	246,825	250,550	283,014	263,870	278,920	264,510	6.1
6	Valine-2TMS	7,482,140	7,144,291	7,462,783	7,319,498	7,527,203	7,387,183	2.1
9	Leucine-2TMS	2,281,092	2,177,498	2,331,331	2,251,281	2,341,946	2,276,630	2.9
10	Isoleucine-2TMS	1,769,980	1,684,710	1,753,759	1,723,011	1,773,770	1,741,046	2.1
11	Proline-2TMS	37,381,457	36,443,437	36,453,744	36,790,934	37,089,023	36,831,719	1.1
12	Glycine-3TMS	3,744,069	3,605,424	3,724,203	3,729,635	3,745,664	3,709,799	1.6
14	Succinic acid-2TMS	9,348,320	9,158,144	9,295,211	9,397,023	9,504,533	9,340,646	1.4
15	Fumaric acid-2TMS	191,564	188,831	184,723	190,778	186,857	188,551	1.5
16	Serine-3TMS	165,095	151,296	166,918	161,272	177,821	164,480	5.8
17	Threonine-3TMS	11,112	11,557	12,044	11,903	13,715	12,066	8.2
18	Malic acid-3TMS	1,693,758	1,661,588	1,710,883	1,697,603	1,746,216	1,702,010	1.8
20	Aspartic acid-3TMS	139,759	133,693	116,042	138,842	141,339	133,935	7.8
21	Methionine-2TMS	7,455	7,976	7,116	6,761	7,765	7,415	6.6
22	4-Hydroxyproline-3TMS	43,411	35,023	40,200	36,148	40,477	39,052	8.8
23	GABA-3TMS	6,001,936	6,116,484	5,890,392	6,319,461	6,089,764	6,083,607	2.6
24	Cytosine-2TMS	93,316	90,716	91,565	91,061	93,332	91,998	1.4
25	Threonine-4TMS	95,914	85,688	102,953	96,623	94,752	95,186	6.5
26	Ketoglutaric acid-MO-2	101,455	100,364	95,273	97,427	107,090	100,322	4.5
27	Glutamic acid-3TMS	953,604	932,080	791,415	915,642	930,802	904,709	7.2
28	Phenylalanine-2TMS	2,418,894	2,301,757	2,380,551	2,353,220	2,426,315	2,376,147	2.1
30	Asparagine-3TMS	19,423	19,581	17,856	18,634	19,954	19,090	4.4
31	Putrescine-4TMS	530,322	556,091	481,363	574,139	523,674	533,118	6.6
32	Shikimic acid-4TMS	279,637	272,929	319,044	316,435	294,930	296,595	7.0
33	Citric acid-4TMS	2,683,364	2,576,903	2,619,719	2,657,033	2,666,969	2,640,798	1.6
34	Quinic acid-5TMS	162,309	142,400	156,146	154,321	147,561	152,547	5.1
35	Adenine-2TMS	760,836	755,687	770,628	793,754	794,590	775,099	2.4
36	Lysine-4TMS	1,347,973	1,356,989	1,303,882	1,428,463	1,315,811	1,350,624	3.6
37	Histidine-3TMS	210,251	218,994	218,757	246,916	228,676	224,719	6.2
38	Tyrosine-3TMS	7,780,479	7,286,124	7,428,618	7,444,638	7,661,244	7,520,221	2.6
39	Guanine-3TMS	692,918	625,086	694,491	676,205	697,726	677,285	4.5
41	Tryptophan-3TMS	316,641	333,292	274,695	334,574	311,702	314,181	7.7
44	Adenosine-4TMS	86,733	84,366	85,527	83,393	83,617	84,727	1.6
45	Guanosine-5TMS	679,723	657,820	648,207	629,491	645,907	652,230	2.8

※装置の再現性を評価するため、内標などによる補正は行っておりません

【結果と考察】

各成分のRSD. (再現性) はすべて10%未満となり高い精度を確認できた。

TIC (トータルイオンクロマトグラム) を見るとピーク形状や分離も良好で、固相抽出による洗浄・脱水が機能的に働き、固相内で効率的に誘導体化が行われていることが推察できる。固相抽出以降において、定量的にも高精度の分析手法と考えられる。

当分析法は固相誘導体化により抽出作業の簡易化や精度の向上や時間短縮という効果が得られ、オンライン自動分析による省力化も見込める。また、弱点だった前処理の煩雑・長時間を克服したことでGC/MSのメリットである高分離・高い定性能力・データベースの充実などを最大限に生かせる手法となると考えられる。

各サンプルの定量比較 (面積値比) を行った結果、サンプルによる違いが明確に判定できた。精度の高い分析法から得られるデータは、信頼性の高い解析結果に寄与でき、今後のビール系飲料等の開発に生かされると考えられる。