

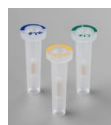
固相誘導体化法による短鎖脂肪酸と有機酸の一斉分析法の開発（試料：ブルーチーズ）

はじめに

従来のメタボローム分析において、**短鎖脂肪酸**は、凍結乾燥/遠心乾固の工程における気化損失が懸念されるため、通常のメタボローム解析と同じ手法での前処理が難しく、塩酸性下でのジエチルエーテル抽出などの手法が取られることが多い。そこで、本研究では凍結乾燥工程を必要としない**自動固相誘導体化**オンラインSPE/GC/MSシステムを用いて、**MTBSTFA誘導体化**試薬による短鎖脂肪酸と有機酸の一斉分析のメソッド開発を行った。



スパイラル
インサート



Flash-SPE



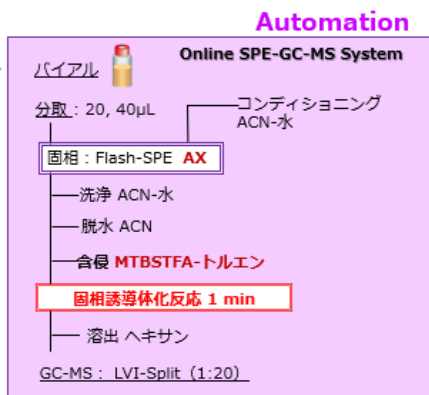
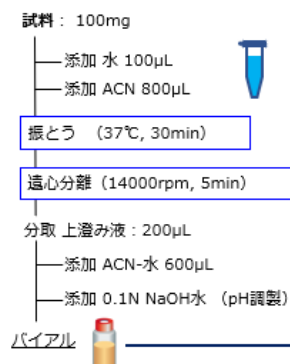
メタボローム分析用SPE-GC-MSシステム（イメージ）

“写真およびイメージの無断転載禁止”

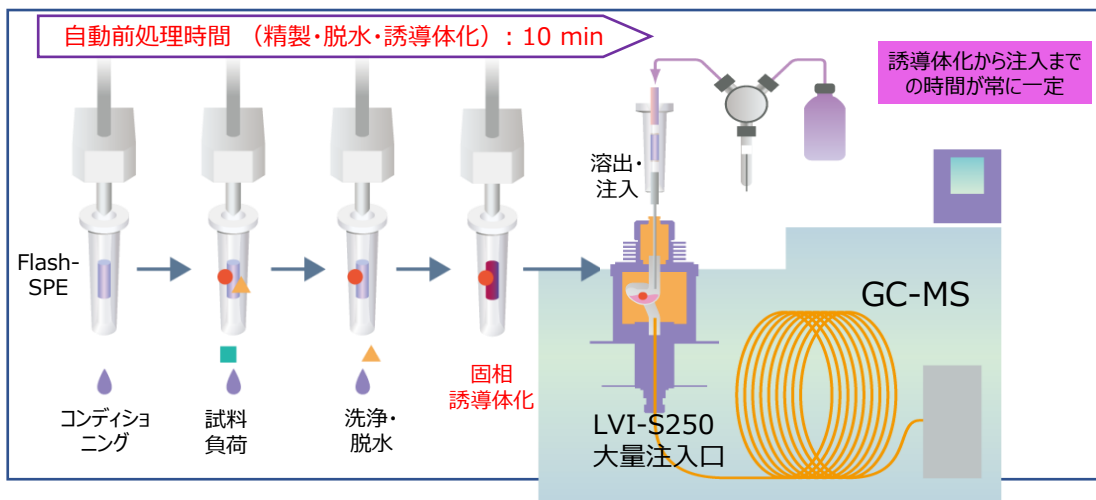
測定条件

SPE-GC Interface	SGI-M100; AiSTI Science
SPE Cartridge	Flash-SPE AX
PTV Injector	LVI-S250 (AiSTI Science)
Insert Type	Spiral Insert
Injector Temp.	150℃(0.5min)-25℃/min-290℃
GC	Agilent 7890B
Inlet Mode	Split
Split Flow	20 mL/min
Flow Mode	Constant Flow, 1.1ml/min
Column	Vf-5ms, 0.25mm i.d. X 30m, df;0.25μm
Oven Temp.	60℃(3min)-10℃/min-100℃-20℃/min-310℃
Trans. Line Temp.	290℃
MS	Agilent 5977B
MS Method	SCAN, m/z;70-470

固相誘導体化前処理フロー例



固相抽出からGC-MS注入工程（全自動処理）



SGI-M100
for SPE-GC system

Sample



ブルーチーズ

Information

【参考文献】

メタボロームシンポジウム
2018 ポスター発表

「固相誘導体化法による短鎖脂肪酸と有機酸の一斉分析法の開発」

○佐々野僚一、杉立久仁代2、野原健太2、古野正浩3、福岡英一郎3

（1アイスティサイエンス、2アジレント・テクノロジー、3阪大院・工）

AiSTI SCIENCE

Product

SPE-GCシステム
SGI-M100
固相カートリッジ
Flash-SPE
GC大量注入装置
LVI-S250

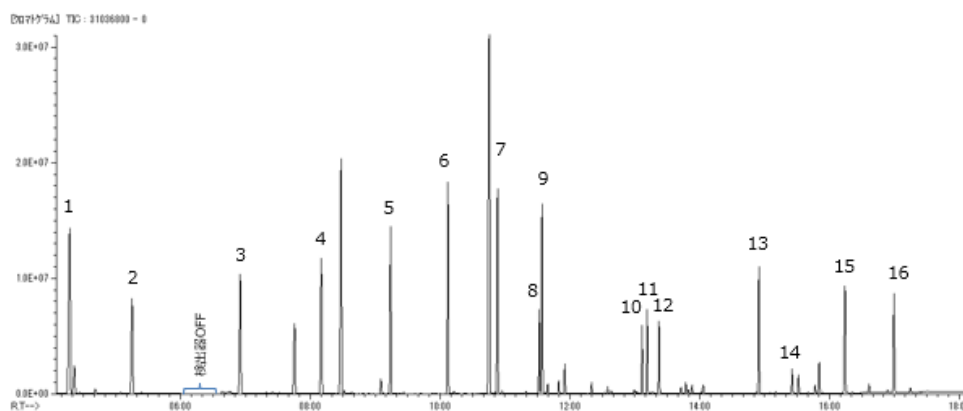
株式会社アイスティサイエンス

TEL:073-475-0033

E-mail : as@aisti.co.jp

HP : www.aisti.co.jp

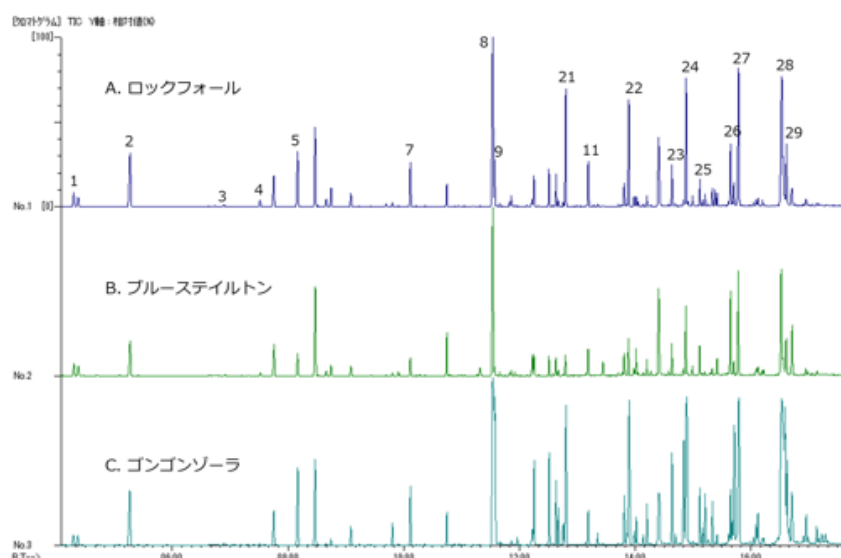
本法による標準溶液のSCANトータルイオンクロマトグラムと再現性



- | | | |
|-------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| 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 | |

No. 化合物名	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Ave.	RSD, %
1 Methanoic acid-tBDMS	30,227,430	30,889,896	30,429,839	30,948,441	31,244,577	31,557,736	32,493,298	32,124,585	32,670,291	31,126,554	31,371,265	2.7
2 Ethanoic acid-tBDMS	12,340,883	12,538,808	12,137,282	12,298,944	12,381,311	12,578,273	13,094,081	12,862,755	12,800,785	12,135,503	12,516,863	2.6
3 Propanoic acid-tBDMS	12,823,811	12,909,258	12,779,143	12,845,278	13,087,033	13,015,973	13,636,656	13,327,889	13,578,399	12,345,834	13,034,927	3.0
4 Butanoic acid-tBDMS	11,475,299	11,581,978	11,808,966	11,688,344	11,946,609	12,009,882	12,394,007	11,964,797	12,362,085	11,127,740	11,835,971	3.3
5 Pentanoic acid-tBDMS	11,588,243	11,720,223	12,243,830	11,920,575	12,135,019	12,354,232	12,670,558	12,084,388	12,720,821	11,576,139	12,101,403	3.4
6 Hexanoic acid-tBDMS	11,580,646	11,842,742	12,353,900	11,988,066	12,169,039	12,387,848	12,572,832	12,065,398	12,647,753	11,874,440	12,148,266	2.8
7 Heptanoic acid-tBDMS	11,606,883	11,805,299	12,464,553	12,009,352	12,146,574	12,496,200	12,573,604	11,959,907	12,691,060	12,106,993	12,186,043	2.9
8 Lactic acid-2tBDMS	1,077,185	1,230,088	1,131,334	1,076,805	1,162,595	1,154,103	1,154,143	1,145,913	1,187,630	1,112,992	1,143,279	4.1
9 Octanoic acid-tBDMS	10,608,992	10,881,088	11,527,448	11,111,574	11,200,905	11,651,375	11,407,126	10,950,090	11,613,534	11,248,975	11,220,111	3.0
10 Maleic acid-2tBDMS	1,867,779	1,969,324	2,040,317	1,900,232	2,065,959	2,002,221	1,949,168	1,898,625	2,022,759	2,113,877	1,983,026	4.0
11 Succinic acid-2tBDMS	2,406,066	2,438,793	2,495,130	2,401,336	2,499,333	2,510,922	2,491,212	2,377,200	2,506,791	2,573,343	2,470,013	2.5
12 Fumaric acid-2tBDMS	4,193,048	4,331,927	4,480,305	4,218,660	4,487,927	4,390,857	4,285,980	4,205,144	4,422,052	4,579,983	4,359,588	3.1
13 Malic acid-3tBDMS	1,570,355	1,544,780	1,523,746	1,576,209	1,573,185	1,590,439	1,612,939	1,578,652	1,571,389	1,623,141	1,576,484	1.8
14 a-Ketoglutaric acid-3tBDMS	553,488	530,143	534,318	509,953	582,938	521,569	534,178	552,656	537,514	609,245	546,600	5.4
15 Tartaric acid-4tBDMS	563,021	521,446	497,159	546,241	530,917	526,143	540,008	583,506	526,641	580,916	541,600	5.1
16 Citric acid-4tBDMS	924,916	849,805	796,506	911,965	892,992	862,443	834,170	973,466	842,453	1,025,026	891,374	7.8

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



試料：ブルーチーズ3種



C B A

- | | |
|----|--------------------------|
| 1 | Methanoic acid-tBDMS |
| 2 | Ethanoic acid-tBDMS |
| 3 | Propanoic acid-tBDMS |
| 4 | Butanoic acid-tBDMS |
| 5 | Pentanoic acid-tBDMS |
| 7 | Heptanoic acid-tBDMS |
| 8 | Lactic acid-2tBDMS |
| 9 | Octanoic acid-tBDMS |
| 11 | Succinic acid-2tBDMS |
| 21 | Decanoic acid-tBDMS |
| 22 | Dodecanoic 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 |

【まとめ】

ギ酸および酢酸を含む短鎖脂肪酸および有機酸とも良好なクロマトグラムを得ることができた。また、誘導体化反応時間は2分で、自動前処理にかかった時間は約10分であった。MBSTFAによる固相誘導体化法により、凍結乾燥工程を行わずに、自動で迅速な分析が可能となった。本法は短鎖脂肪酸および有機酸の一斉分析に有効であることがわかった。