

オンライン固相誘導体化法とJetCleanセルフクリーニングイオン源搭載GC/MS を用いた醤油のメタボローム解析

はじめに

食品中のアミノ酸や有機酸等を誘導体化することでGC/MSでは一斉分析が可能で広く使用されています。だが、従来法では前処理工程では水分除去に4～8時間、誘導体化に2時間と長時間と手間を要しています。本アプリケーションノートでは、【固相誘導体化】技術を用い、前処理からGC/MS測定までオンラインで自動処理可能なSPE-GCシステムを用い、自動・省力化について検討しました。また、自動クリーニング機能を有するJetCleanセルフクリーニングイオン源（以下JetCleanイオン源）を用いました。


スパイラル
インサート

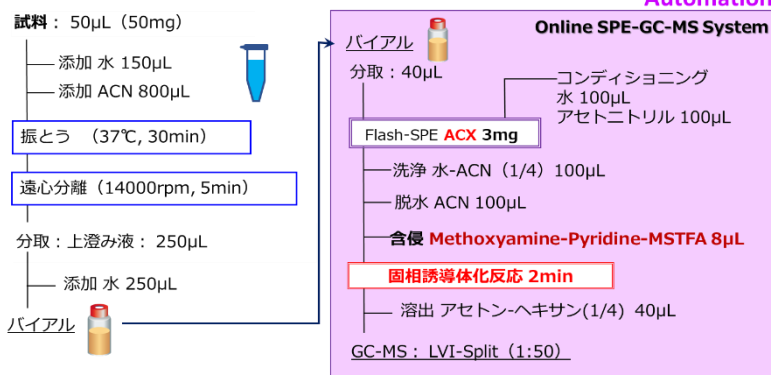

Flash-SPE


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”

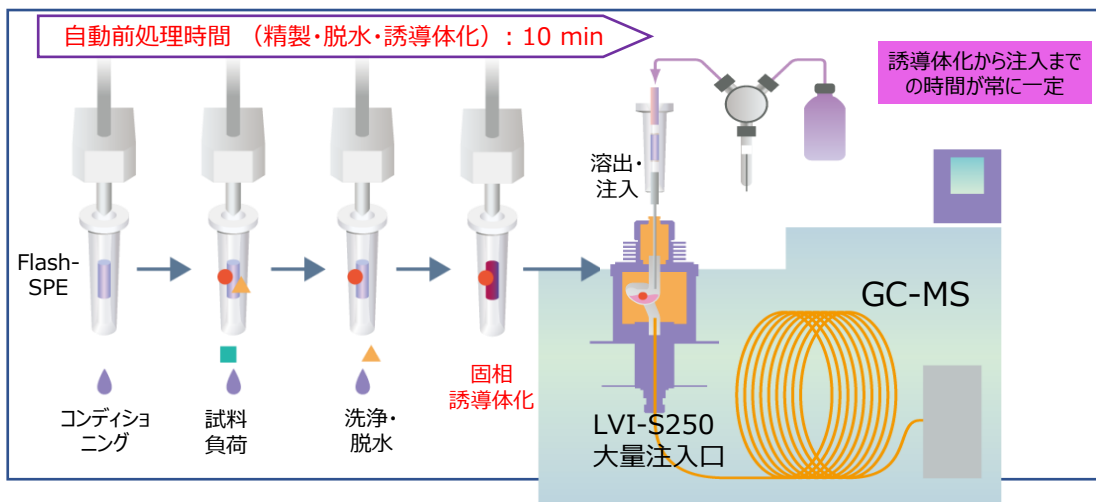
測定条件

オンラインSPE-GC：SGI-M100 [アイスティサイエンス]
GC用大量注入装置：LVI-S250 [アイスティサイエンス]
GC-MSシステム：Agilent 7890 GC/5977B
GC/MS カラム：DB-5ms (30m×0.25mm I.D. 膜厚 0.25μm, P/N 1225536)
ライナー：スパイラルインサート
注入口温度：150℃(1min)-100℃/min-240℃-50℃/min-300℃(21min)
注入法：大容量スプリット(50:1)
カラム流量：1.1mL/min(He, コンスタントフロー)
オープン温度：80℃(2min)-10℃/min-310℃(5min)
トランスファーライン温度：290℃
イオン源温度：300℃
四重極温度：150℃
JetCleanイオン源：測定とクリーニング

固相誘導体化前処理フロー例（参考※実際の工程と異なる場合がございます）



固相抽出からGC-MS注入工程（全自動処理）


SGI-M100
for SPE-GC system

Sample



醤油

【出典】
株式会社アジレント・テクノロジー
アプリケーションノート

出典URL（アジレントHP）
<https://www.agilent.com/appnote/applinote.php?pubno=GC-MS-201802SG-002>

著者
杉立久仁代1, 穴沢秀峰1,
中村貞夫1, 佐々野僚一2
1.アジレント・テクノロジー 株式会社
2.株式会社アイスティサイエンス

【参考文献】
1)杉立ら、第11回メタボロームシンポジウム (2017)
2)Sasano et. al. 15th Metabolomics2017 (2017)
3)Takeo et. al. Journal of Bioscience and Bioengineering (2017)
4)佐々野ら、第9回メタボロームシンポジウム (2015)
5)Sasano et. al. 13th Metabolomics2015 (2015)
6)馬場ら、2015年度農芸化学学会大会 (2015)

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

○醤油希釈液を誘導体化処理した試料のTICC

固相誘導体化法では、糖類及び非イオン性代謝物は除去可能なため検出されず、また、グリセロールやリン酸と共溶出するロイシンの検出が容易になりました。(図1) それ以外の代謝物ではアミノ酸のレスポンスバランスは従来法と固相誘導体化法ではほぼ同等の結果が得られました。(図2)

図1

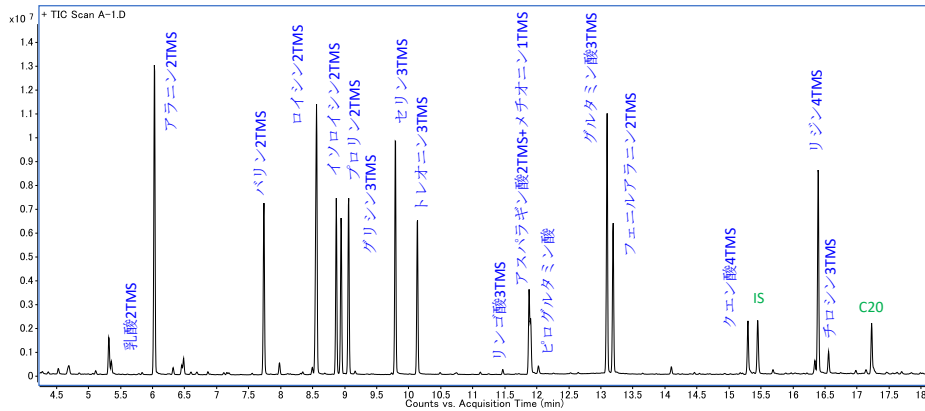
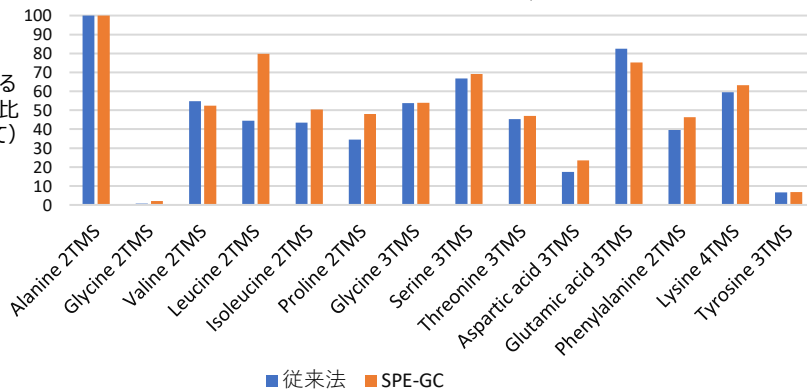


図2

デコンボリューションによる
各代謝物の面積相対比
(アラニンを100%として)



※従来法：Bligh&Dyer法

※SPE-GC：超純水で50倍希釈→
醤油希釈液/アセトニトリル(1/4,v/v)
で除タンパク後、超純水でさらに2倍希
釈（醤油として500倍希釈）→
SPE-GCで自動分析

○各種醤油の比較

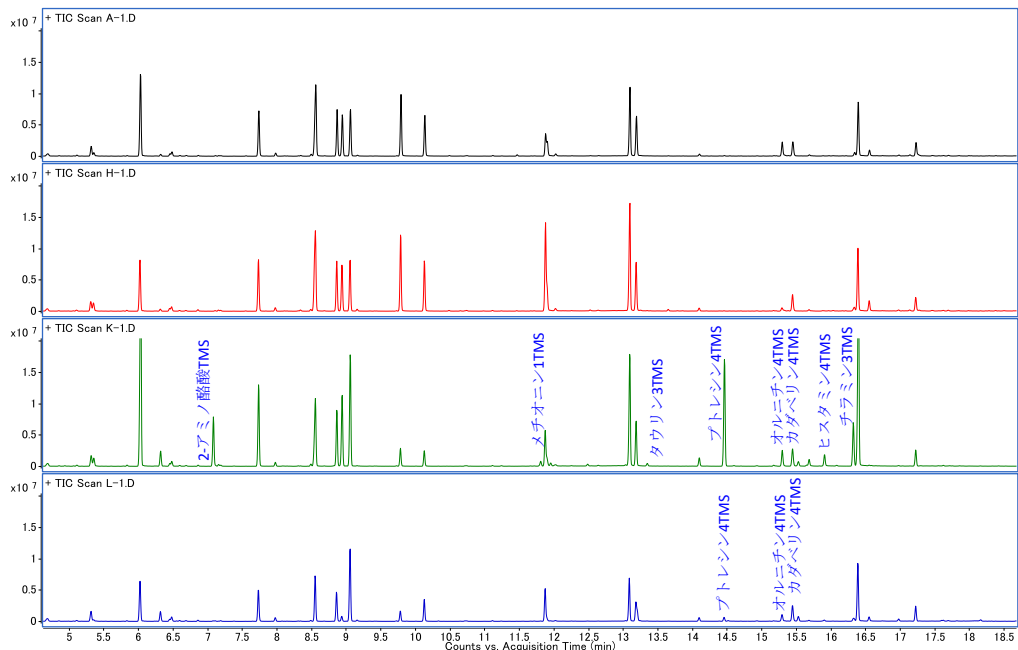
複数のメーカーの濃口醤油を比較したところ、アミノ酸はメーカーを問わず似たようなバランスで含まれていました。一方、いしりやナンプラーのような魚
醤の場合は、アミノ酸バランスは濃口醤油とは異なりしました。いしりからは2-アミノ酪酸の他、プトレシン、チラミン等のアミン類（量によっては腐敗アミン
）も検出されました。これらの成分についても従来法と固相誘導体化法では同等の結果が得られました。

濃口醤油

生醤油

いしり

ナンプラー



○まとめ

オンライン固相誘導体化を用いることで、抽出以降の前処理装置を自動化できるだけでなく、前処理に係る時間を大幅に短縮することができました。糖類及び非イオン性化合物を除く化合物については従来法と固相誘導体化法ではほぼ同等の結果が得られました。また、JetCleanを用いてもマススペクトルの変化や大幅な感度低下は認められず、オンライン固相誘導体化システムとJetClean技術を組み合わせることで、迅速かつ堅牢なメタボロミクス分析が期待できることが分かりました。 ※本アプリケーションノートの内容は第11回メタボロームシンポジウムで発表したものです。詳細およびJetClean技術の効果についてはアジレント・テクノロジーWebサイト (www.agilent.com/chem/jp) をご参照ください。