

# 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 (5)短鎖脂肪酸

## 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短鎖脂肪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

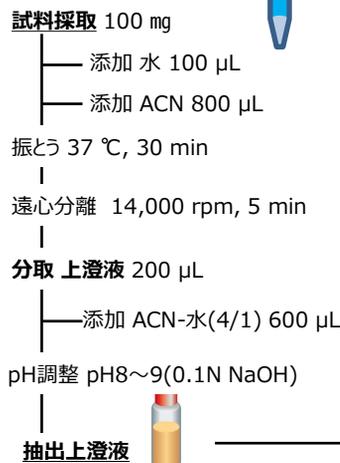
#### 【Intuvo9000GC】

- ・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



### オンライン固相誘導体化SPE-GC : SPL-M100



## 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*1	40 $^{\circ}$ C(3 min)-10 $^{\circ}$ C/min-80 $^{\circ}$ C -20 $^{\circ}$ C/min-150 $^{\circ}$ C -30 $^{\circ}$ C/min-310 $^{\circ}$ C(2 min)
注入口(MMI)温度	150 $^{\circ}$ C(0.5min)-25 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C
ライナー	ウルトライナートライナー、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*2	150 $^{\circ}$ C(0.5 min)-25 $^{\circ}$ 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

※1 初期温度60 $^{\circ}$ Cではギ酸、酢酸のピーク形状が崩れたため40 $^{\circ}$ Cに変更

※2 ガードチップの温度が低いと溶出の早いギ酸、酢酸でピーク形状が悪化するためMMIと同条件に設定



**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

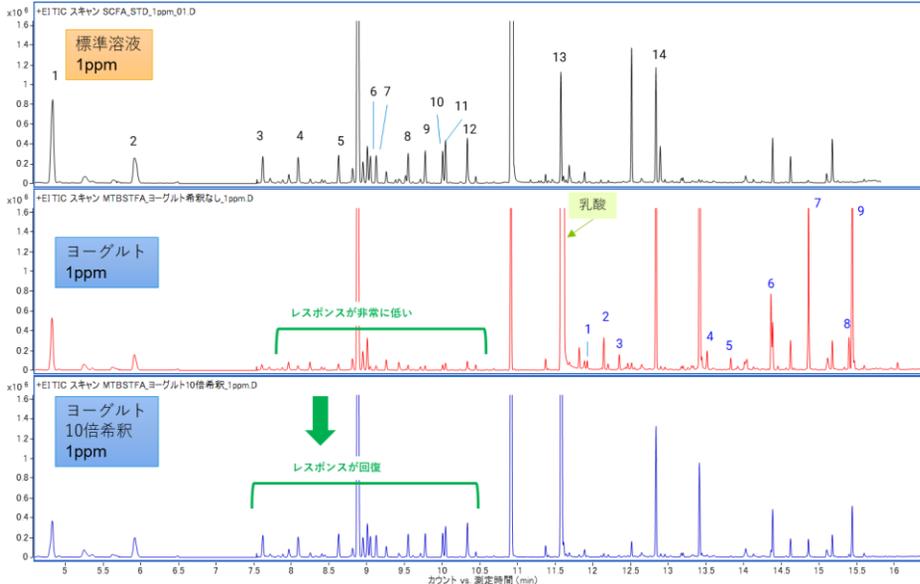
TEL: 073-475-0033

E-mail : as@aisti.co.jp

[www.aisti.co.jp](http://www.aisti.co.jp)

結果と考察

短鎖脂肪酸の標準溶液とヨーグルトのTICクロマトグラムを示します。ヨーグルトでは乳酸が大量に検出しました。そこで抽出液に1ppmの標準溶液を添加しました。その結果レスポンスが非常に低く、おそらく固相が飽和状態となり、短鎖脂肪酸の検出ができなかった可能性が考えられました。そこで10倍希釈、100倍希釈を行い、短鎖脂肪酸を添加して検討したところ、10倍希釈で測定できることが分かりました。このように試料によっては固相負荷量の検討が必要であることがわかりました。



1. Formic acid TBDMS
  2. Acetic acid TBDMS
  3. Propionic acid TBDMS
  4. Isobutyric acid (Methyl propionic acid) TBDMS
  5. Butyric acid TBDMS
  6. 2-Methyl butyric acid TBDMS
  7. Isovaleric acid (3-Methyl butyric acid) TBDMS
  8. Valeric acid TBDMS (Pentanoic acid)
  9. 2-Methylvaleric acid (2-Methylpentanoic acid) TBDMS
  10. 3-Methylvaleric acid (3-Methylpentanoic acid) TBDMS
  11. Isocaproic acid TBDMS (4-Methylvaleric acid, 4-Methylpentanoic acid, Isohexanoic acid) TBDMS
  12. Caproic acid (Hexanoic acid) TBDMS
  13. Lactic acid 2 TBDMS
  14. Succinic acid 2 TBDMS
1. 2-Hydroxybutanoic acid (2 TBDMS)
  2. 2-Hydroxy-3-methylbutyric acid (2 TBDMS)
  3. 2-Hydroxyisocaproic acid (2 TBDMS)
  4. Glyceric acid (3 TBDMS)
  5. 3-Phenylactic acid (2 TBDMS)
  6. 2-Hydroxyglutaric acid (3 TBDMS)
  7. Orotic acid (3 TBDMS)
  8. 4-Hydroxyphenylactic acid (3 TBDMS)
  9. Citric acid (4 TBDMS)

図1 標準溶液とヨーグルトのTICクロマトグラム

標準溶液 1ppm の n=5 の再現性 (RSD) と TIC クロマトグラムを表1及び図2に示します。再現性はいずれの成分も5%未満のと良好な結果が得られました。ギ酸、酢酸、乳酸についてブランクから検出されました。

表1 標準溶液1ppmの再現性(RSD)

化合物名	%RSD
Formic acid TBDMS*	1.7
Acetic acid TBDMS*	4.2
Propionic acid TBDMS	2.0
Isobutyric acid TBDMS	1.7
Butyric acid TBDMS	1.0
2-Methylbutanoic acid TBDMS	2.5
Isovaleric acid TBDMS	1.7
Valeric acid TBDMS	2.2
2-Methylvaleric acid TBDMS	2.1
3-Methylvaleric acid TBDMS	3.1
Isocaproic acid TBDMS	2.9
Caproic acid TBDMS	2.6
Lactic acid 2 TBDMS*	1.7
Succinic acid 2 TBDMS	1.1

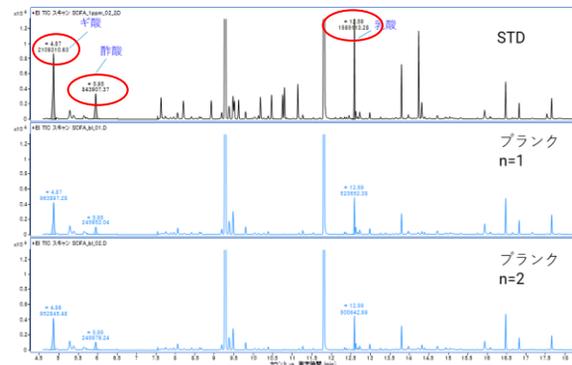


図2 標準溶液1ppmのTICクロマトグラム

短鎖脂肪酸はTBDMS、乳酸及びピコハク酸は2 TBDMS  
\*ギ酸、酢酸、乳酸はブランクあり

ヨーグルトの10倍希釈液に標準溶液を添加した n=3 の再現性 (RSD) を表2に示します。青字は標準溶液添加なしのヨーグルトに含まれる成分です。ほとんどの成分で RSD 10% 未満の良好な結果が得られました。

表2 ヨーグルト1ppm標準溶液添加の再現性(RSD)

※ヨーグルトは10倍希釈溶液に添加

化合物名	%RSD	化合物名	%RSD
Formic acid TBDMS	0.8	2-Hydroxybutanoic acid 2 TBDMS	-
Acetic acid TBDMS	2.4	2-Hydroxy-3-methylbutyric acid 2 TBDMS	5.7
Propionic acid TBDMS	2.2	2-Hydroxyisocaproic acid 2 TBDMS	7.6
Isobutyric acid TBDMS	2.3	Glyceric acid 3 TBDMS	18.4
Butyric acid TBDMS	2.8	3-Phenylactic acid 2 TBDMS	12.8
2-Methylbutanoic acid TBDMS	1.4	2-Hydroxyglutaric acid 3 TBDMS	6.3
Isovaleric acid TBDMS	2.8	Palmitic acid TBDMS	8.1
Valeric acid TBDMS	2.5	Orotic acid 3 TBDMS	1
2-Methylvaleric acid TBDMS	1.5	Oleic acid TBDMS	4.1
3-Methylvaleric acid TBDMS	1.7	4-Hydroxyphenylactic acid TBDMS	8.9
Isocaproic acid TBDMS	1.2	Citric acid 4 TBDMS	2.9
Caproic acid	1.8		
Lactic acid 2 TBDMS	1.6		
Succinic acid 2 TBDMS	0.3		

青字は標準溶液の添加なし、ヨーグルトに含まれる成分

短鎖脂肪酸のみの分析時間は、標準溶液を用いて検討した際には13分程度で終了し、また前処理時間も12分と短いことから、高速化を前提にメソッドを作成していましたが、実試料を測定した際に、試料中に含まれる他の有機酸のt-BDMS 化体が検出されたため分析時間を長めに設定する必要があることがわかりました。

このことからGC測定時間を17.8と設定しました。