

オンライン SPE-GC/MS システムを使用した固相捕集-溶媒溶出法による揮発性成分分析

○新川翔也¹、浅井智紀¹、佐々野僚一¹

1、株式会社アイスティサイエンス

メタボロミクスで扱う分析化合物は日々拡大しており、近年は気相中の揮発性成分も対象とされる。頻用される分析法としては SPME が挙げられるが、SPME のコーティング相は繰り返し使用されることからクロスコンタミネーションのリスクや吸着剤の劣化による再現性低下の可能性がある。それらのリスクが少ない従来の固相捕集-溶媒溶出法では多量の溶媒を使用するため濃縮作業が必要であり、濃縮したサンプルの一部しか GC に導入されないため作業効率が悪い。そこで、固相に保持した成分を全量 GC に導入できるオンライン SPE-GC/MS システムを用いた固相捕集-溶媒溶出法による揮発性成分分析系を構築した。

本手法は、小型固相カートリッジを接続したニードルでバイアル中の気相を一定量吸引し窒素ガスで乾燥を行ったのち、捕集成分をヘキサンで溶出すると同時に GC 注入口に直接導入するものである。溶出された揮発性成分はほぼ全量 GC に導入されるため、サンプル量が少ない場合でも高い感度が期待できる。また、使用する小型固相カートリッジは捕集前に自動でコンディショニングされ注入後に廃棄されるため、コンタミネーションリスクを最小限に抑えることが可能である。

オンライン SPE-GC/MS システムを用いた実サンプルの分析結果から、エチルエステル類、テルペン類、硫黄化合物などのピークが推定された。また、各サンプル（赤ワイン 2 種、生醤油、ポン酢、ステーキ醤油）に特徴的なピークを見出すことが可能であった。

メタボローム新技術

オンラインSPE-GC/MSシステムを使用した固相捕集-溶媒溶出法による揮発性成分分析

○新川翔也, 浅井智紀, 佐々野僚一 (株式会社アイスティサイエンス)

1. オンラインSPE-GC/MSシステムによる固相捕集-溶媒溶出法*1

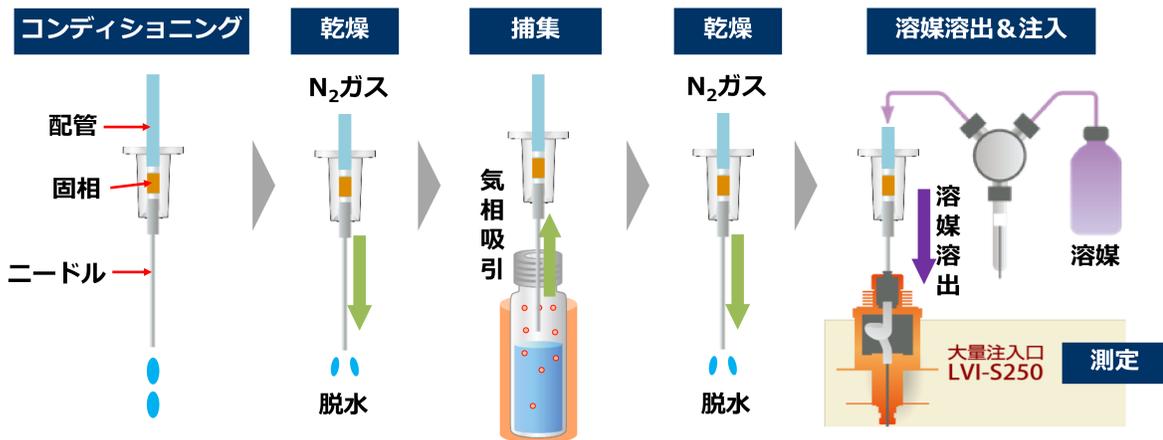


表1. 揮発性成分分析手法の比較

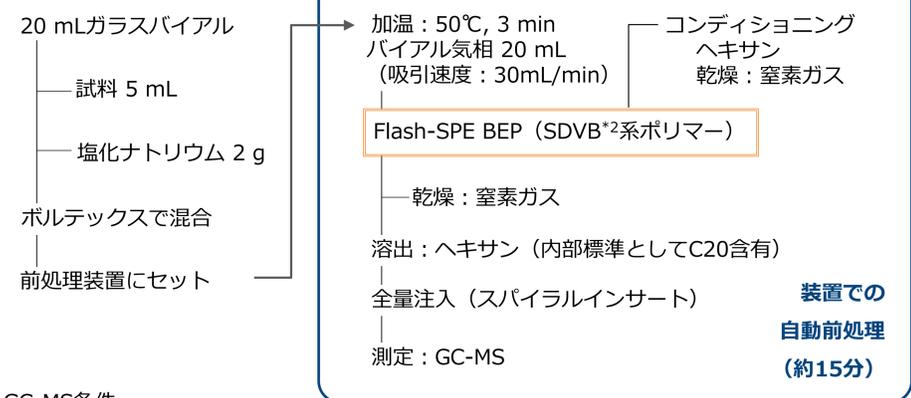
比較項目	溶媒抽出	減圧蒸留 (SAFE)	固相捕集-加熱脱着	固相捕集-溶媒溶出
網羅性	○	○	△	△
自動化	△	×	○	○
熱分解	○	○	△	○
感度	△	○	○	○
誘導体化	△	△	×	○

気相の揮発性成分を固相に捕集し、その溶出液を全量GCに導入する手法

固相捕集-溶媒溶出法は他手法と比較して多くの利点を持つ

2. 実験方法

前処理フロー



GC-MS条件

注入口条件	LVI-S250 (AiSTI Science)
注入口	大量注入
注入条件	大量注入
注入口温度	70°C(0.25 min)-120°C/min-240°C(18 min)
スプリット比	100, 0.2 min-20, 0.5 min-Splitless, 2 min-100, 2 min-15
GC条件	
カラム	プレカラム 50 cm + VF-5ms, 0.25mm i.d. x 30m, df;0.25µm
制御モード	コンスタントフロー、1 mL/min
オープン温度	60°C(2 min)-10°C/min-190°C-30°C/min-310°C(3 min)
MS条件	
インターフェース温度	260°C
イオン源温度	280°C
取得モード	Scan (m/z 41-350)

解析条件

解析ソフト1	COSMO(AiSTI Science)
解析ソフト2	MS-DIAL v4.9.221218
使用ライブラリ	Wiley Registry™ 12th Edition/NIST20 Mass Spectral Library

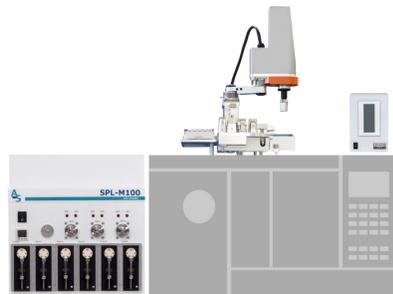


図1. オンラインSPE-GC/MSシステム SPL-M100 (AiSTI Science)

4. 考察

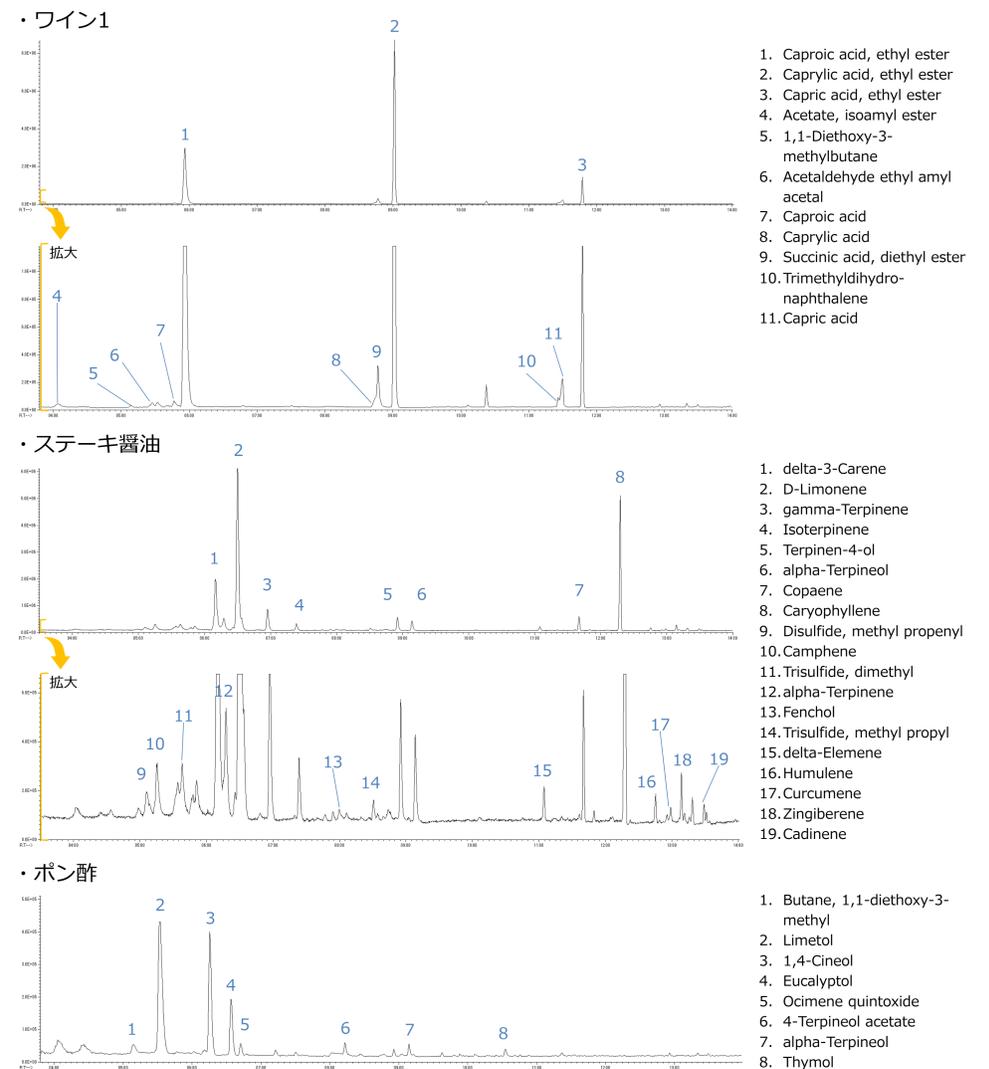
ワインについて、果実香を呈するエチルエステル類が高い強度で検出され、その前駆体である脂肪酸についても検出された。2つのワイン製品を比較したところエチルエステル類のピーク強度には異なる傾向が見られた(図2、表2)。

醤油ベース調味料3種については、原材料の違いによって特徴成分に違いが見られた。特に、ステーキ醤油からは原材料のたまねぎやにんにくに由来する硫黄化合物、香辛料に由来するテルペン類など多くの成分が検出された。一方で4-ヒドロキシ-2-エチル-5-メチル-3-フランに代表されるフラン類や4-エチルグアヤコールなどのフェノール化合物などは未検出であった。これら成分は水酸基を持つことから親水性が高く、現在の溶出溶媒組成(ヘキサン)では固相に吸着されていたとしても溶出されずGCに導入されていないことが予想された。

今後の課題として、固相誘導体化による検出成分の拡大検討が挙げられる。トリメチルシリル化やメチル化によって水酸基などの親水性基を疎水性に変換し、溶出溶媒組成を変更することなく溶出可能な成分を拡大することが可能か検討する。

3. 結果

TICクロマトグラムおよび化合物推定結果



特徴成分の比較

表2. 各サンプルにおける検出ピーク面積値

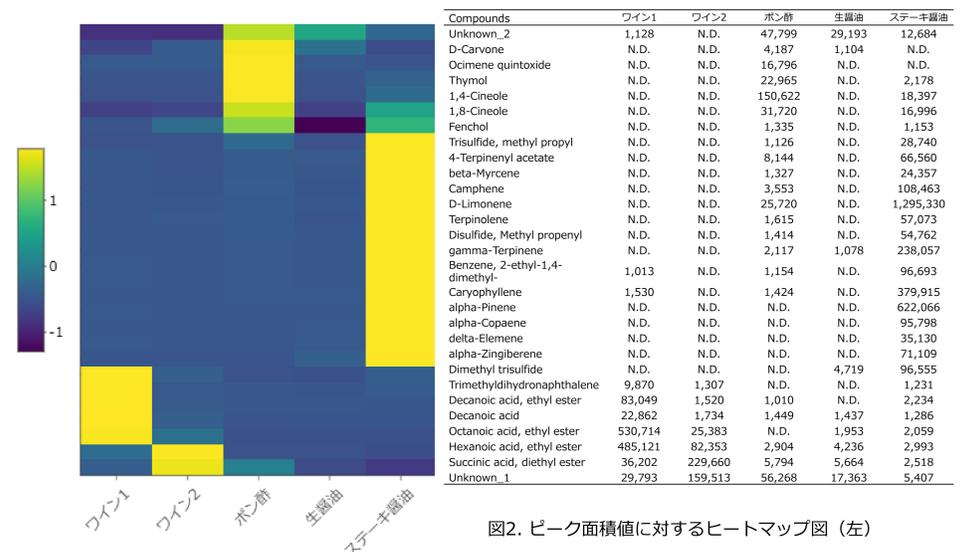


図2. ピーク面積値に対するヒートマップ図(左)

*1 本資料ではオンラインSPE-GC/MSシステムによる 固相捕集-溶媒溶出法を“固相捕集-溶媒溶出法”と省略表記します。
*2 SDVB: スチレン-ジビニルベンゼン