

JASIS2025 出展社セミナー
2025年9月5日（金）12:00~12:30
TKP会場No.3号室

オンライン固相誘導体化 SPE-GC/MSシステムによる香味分析

株式会社アイスティサイエンス
技術開発部
新川 翔也



Beyond your Imagination

AiSTI SCIENCE

本日の内容

1. オンラインSPE-GCシステムについて
2. コーヒー分析例の紹介
 - ① 気相中の香気成分分析およびSPME法との比較
 - ② 気相中の短鎖脂肪酸分析
 - ③ アミノ酸・有機酸・糖類分析
3. まとめ



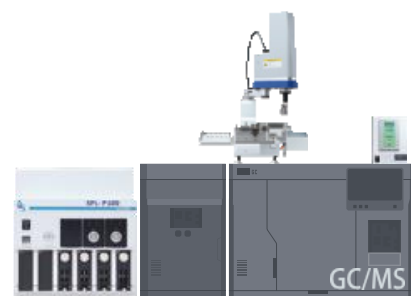
オンラインSPEシステムとは

固相抽出からGC・LC測定までを完全自動化。

測定装置の切り替えも可能な前処理システム。



+ GC



SPE-GC/MS

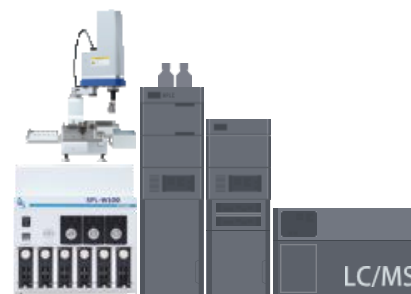
SPL-P100

SPL-M100

SPL-P100FE

SPL-M100FE

+ LC



SPE-LC/MS

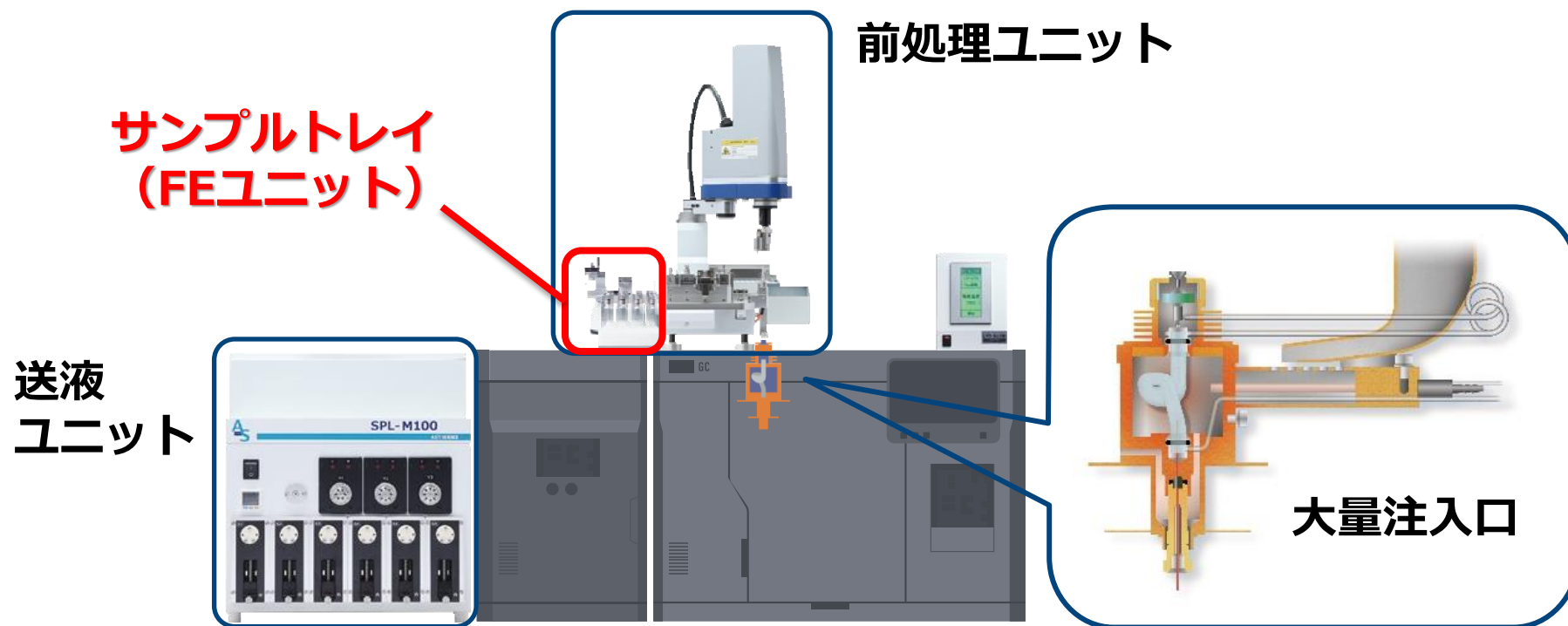
SPL-W100

SPL-E100

オンラインSPE-GCシステム

製品名：SPL-M100FE

メタボローム分析用オンラインSPE-GC システム SPL-M100 + におい分析用FEユニット



SPL-M100FEの活用方法

1台のGC/MSとカラムでにおい分析と呈味成分の分析が可能！

ヘッドスペースバイアルトレイ（気相分析）

- 固相捕集-溶媒溶出法による分析…①
- 固相捕集-誘導体化-溶媒溶出法による分析…②

ノーマルトレイ（液体試料）

- 固相抽出法による香気成分分析
- 固相脱水誘導体化法によるメタボローム分析…③

その他

- オンサイトサンプリング → 送付 → 分析



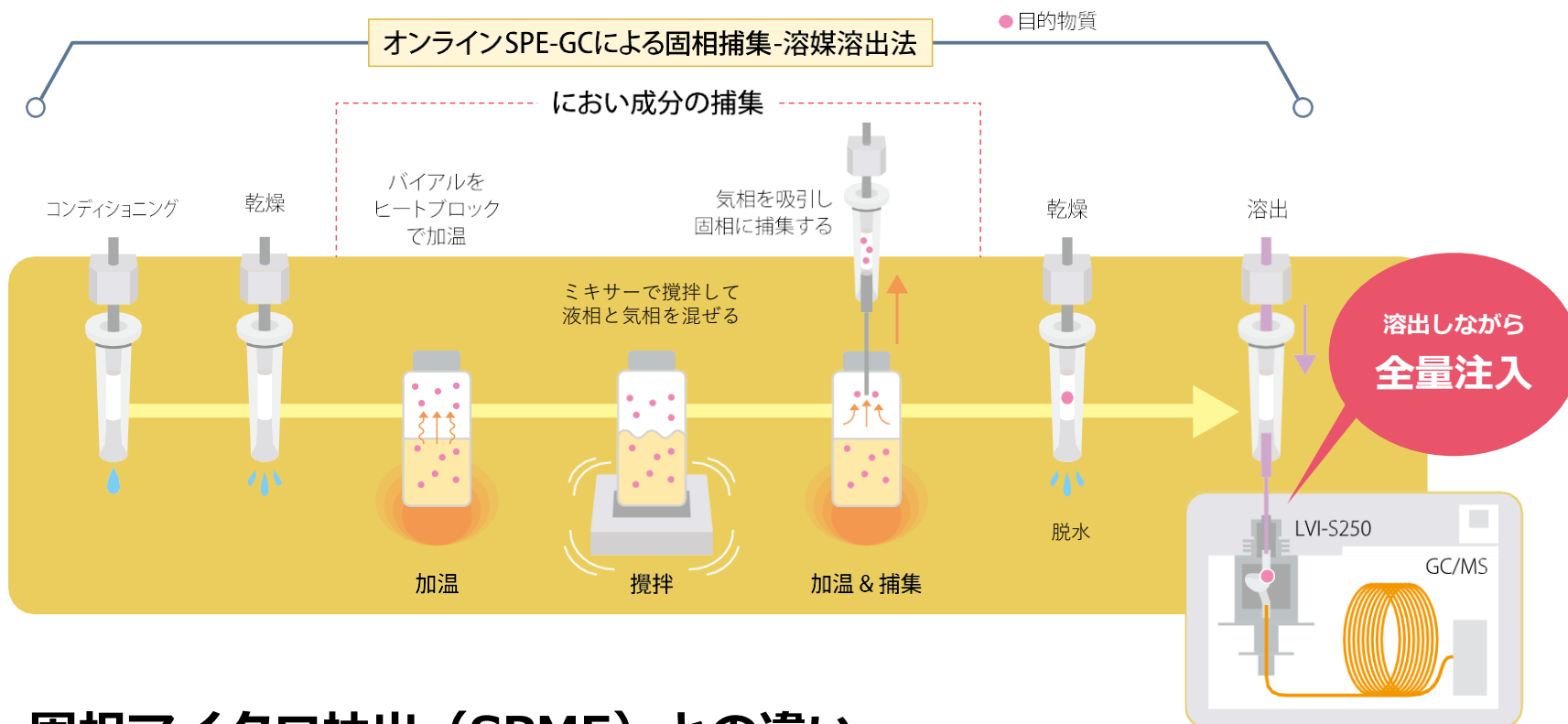
切替可能



コーヒーを例として①②③の分析方法を紹介します

におい分析について

① 固相捕集 – 溶媒溶出法



固相マイクロ抽出 (SPME) との違い

- 溶媒溶出のため熱ストレスが少ない
- 固相カートリッジの交換によりキャリーオーバーがない

①におい分析：前処理フロー

20 mLバイアル

— コーヒー 1.6 mL

— 超純水 6.4 mL

ボルテックス

バイアルトレイにセット



全自動前処理

約25分/検体

Flash-SPE AXs

— コンディショニング
アセトン/ヘキサン (1/3)
アセトン
窒素パージ

気相サンプリング

加温：80℃ (5+5分)
吸引量：10 mL×2回

窒素パージ 90秒

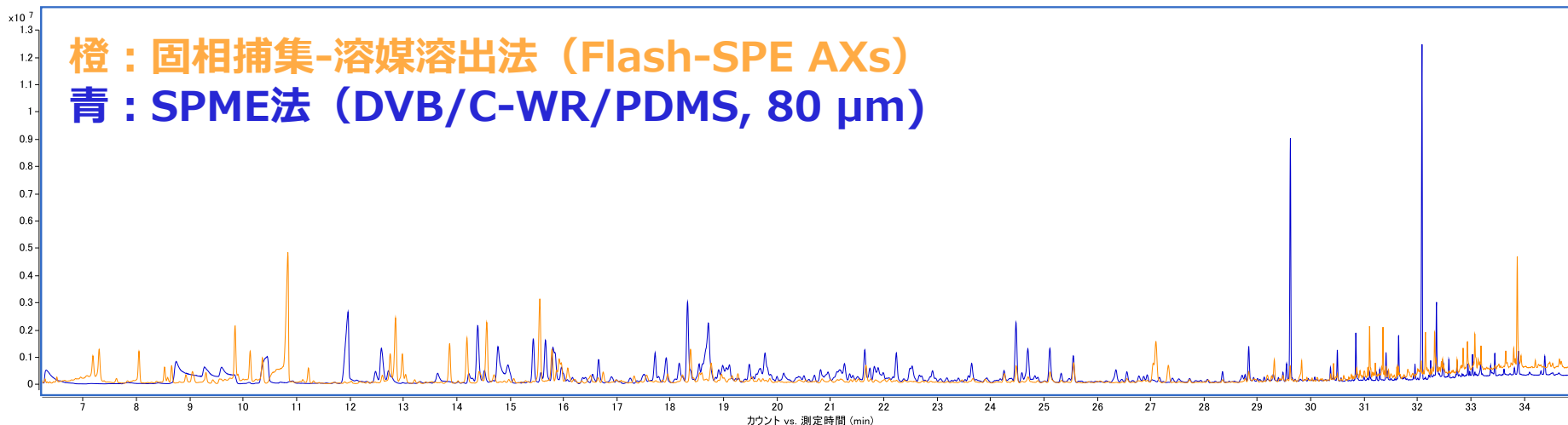
溶出：アセトン/ヘキサン (1/3)

GC/MS分析

①SPME法との比較：分析条件

	固相捕集-溶媒溶出法	SPME法
捕集剤	Flash-SPE AXs	SPME ファイバ (80 μ m, DVB/C-WR/PDMS)
捕集時間	80℃で5分加温後10mL吸引×2回	80℃、約25分
注入方式	SPL-M100FE + LVI-S250	マニュアル注入、標準注入口
インサート	スパイラルインサート	ストレートライナー
注入口温度	70℃ (0.25 min) -100℃/min-250℃	290℃
注入条件	溶媒ベント (大量注入法)	スプリットレス (1 min)
ガスクロマトグラフ	7890B (Agilent)	
流量制御	コンスタントフロー, 1.4 mL/min	
プレカラム	0.25 mm i.d. × 0.5 m	
分析カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.5 μm	
オープン温度	40℃ (4 min) -5℃/min-160℃-30℃/min-310℃ (2 min) , Total 35.0 min	
トランスファーライン	290	
質量分析計	5977B (Agilent)	
イオン源温度	260℃	
データ取得モード	Scan (m/z 33-350)	

①SPME法との比較



図：各手法のトータルイオンクロマトグラム（試料：コーヒー）

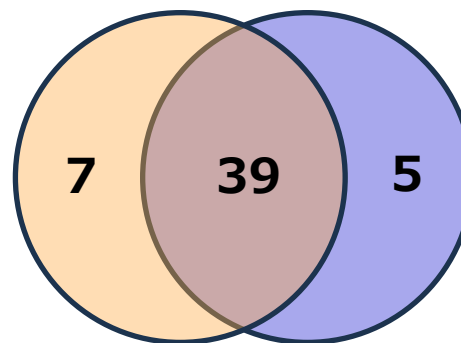


MS-DIAL

- ・ピーク検出
- ・デコンボリューション
- ・ピークアライメント
- ・ピークアノテーション

固相捕集-溶媒溶出法

- ・ イソブレンアルコール
- ・ *N*-メチルピロール
- ・ ジメチルジスルフィド
- ・ *N*-エチルピロール
- ・ 4-メチルチアゾール
- ・ 2-メトキシメチルフラン
- ・ イソプロペニルベンゼン

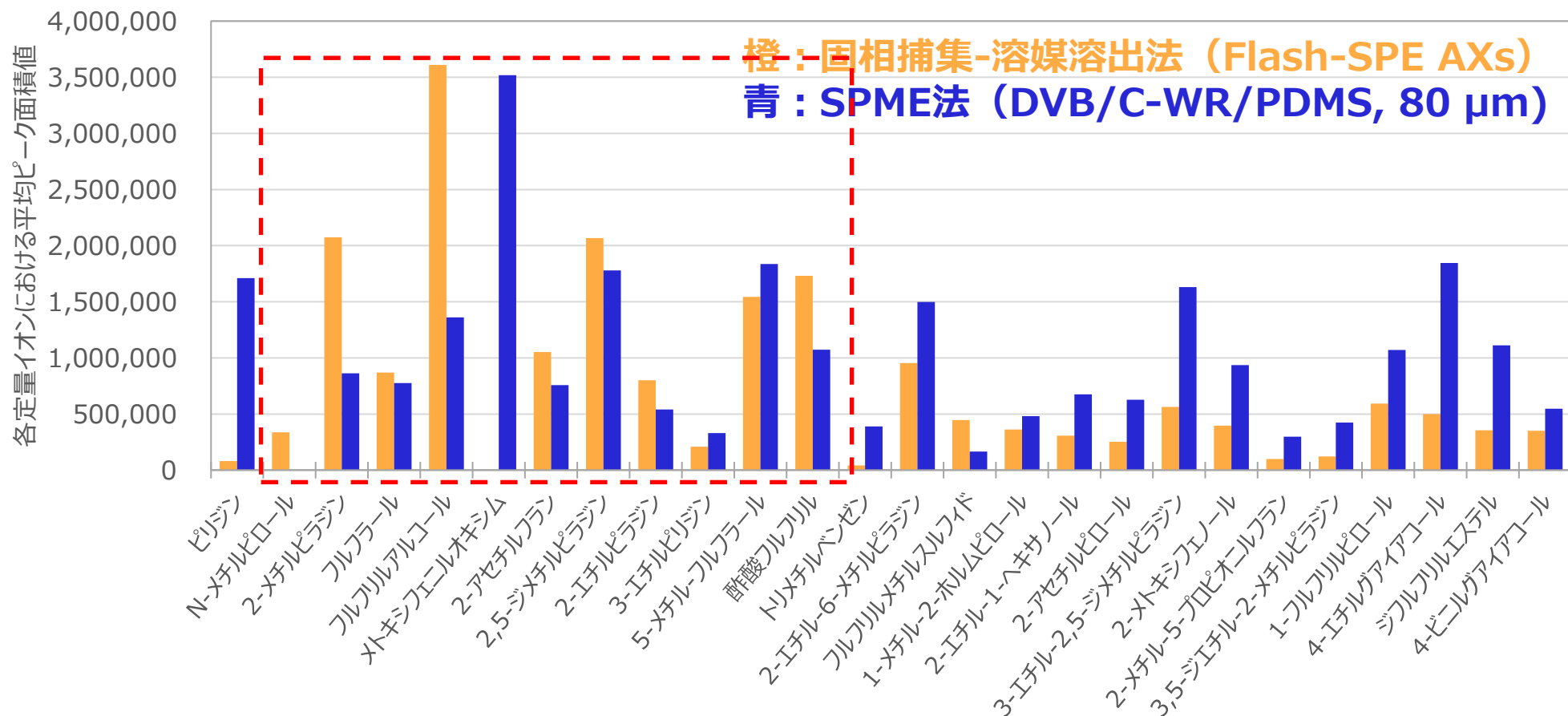


SPME法

- ・ メトキシフェニルオキシム
- ・ トリメチルベンゼン
- ・ 2,6-ジメチルノナン
- ・ トリメチルベンゼン
- ・ 2-エチルヘキサノール

図：各手法における検出化合物数の比較（試料：コーヒー）

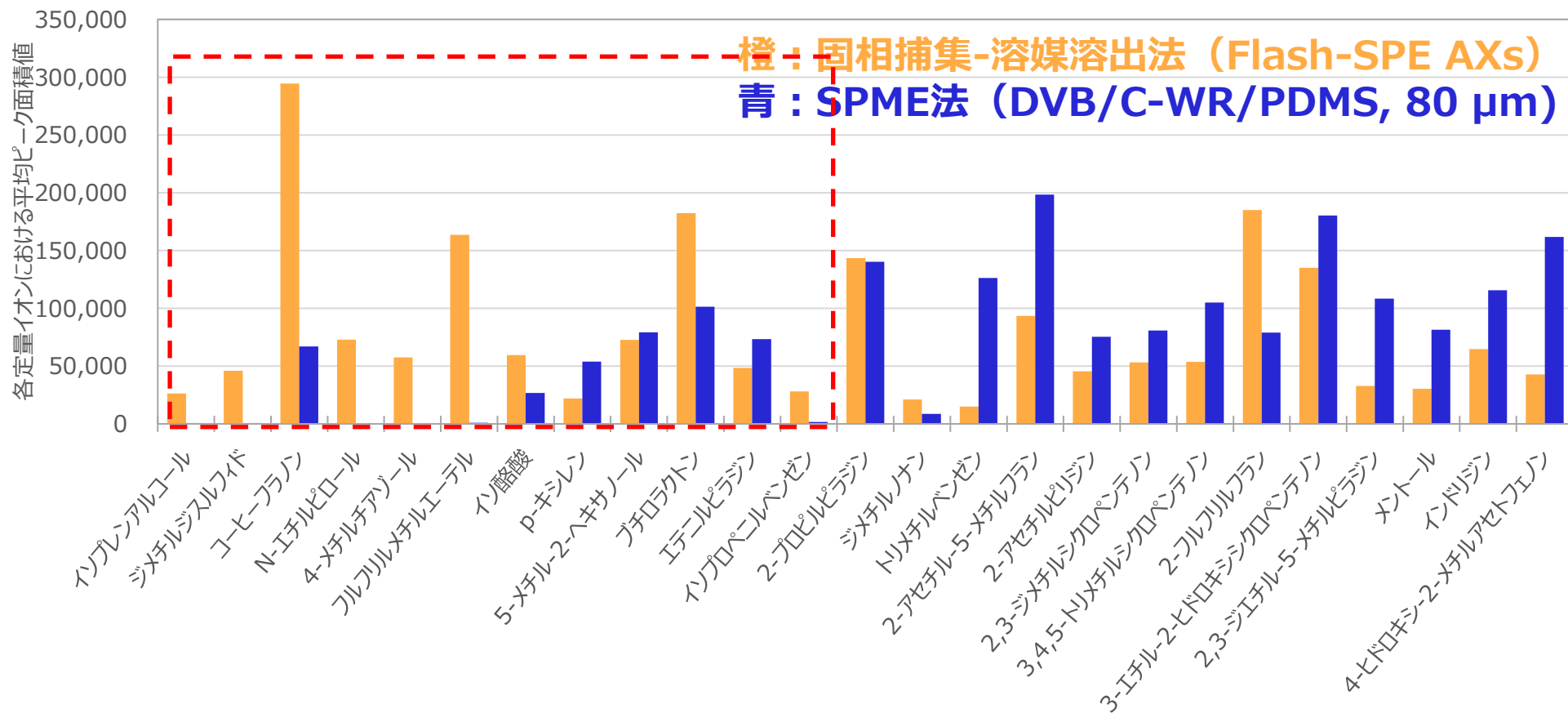
①SPME法との比較



図：高強度検出ピークの面積値比較（試料：コーヒー、保持時間順）

固相捕集-溶媒溶出法：低沸点成分で高い強度が得られ、中～高沸点成分も検出可能

①SPME法との比較



図：低強度検出ピークの面積値比較（試料：コーヒー、保持時間順）

固相捕集-溶媒溶出法：低沸点成分で高い強度が得られ、中～高沸点成分も検出可能

①SPME法との比較：考察

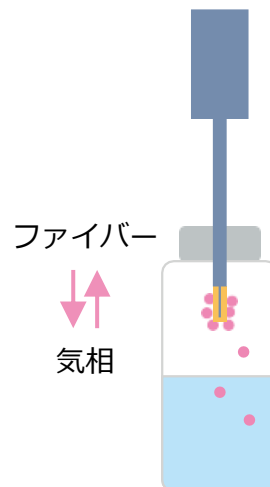
固相捕集-溶媒溶出法



気相中成分を吸引して
固相に捕集する
↓
捕集した成分の比率は
気相中の組成比とほぼ同様

SPME法で濃縮されにくい
低沸点成分を効率よく捕集可能

SPME法



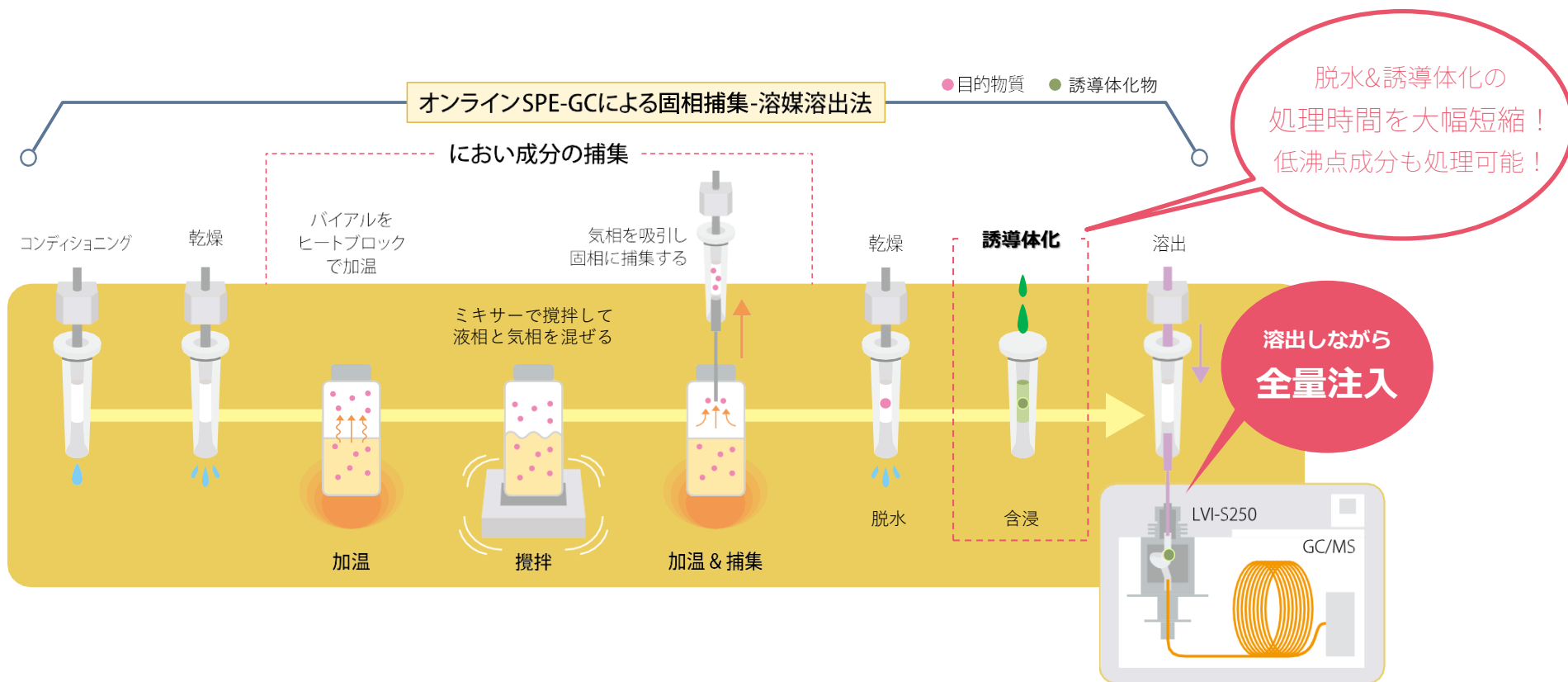
分配係数の違いによって
濃縮効率が変わる
↓
SPME法では気相中の組成比
を反映していない可能性

蒸気圧の低い成分でも
分配係数の高い成分は
効率よく捕集可能

固相捕集-溶媒溶出法はSPME法にない利点を持った前処理方法である

固相捕集－固相誘導體化－溶媒溶出法

② 固相捕集 – 固相誘導体化 – 溶媒溶出法



誘導体化反応により

- ・ 沸点の向上
- ・ ピーク形状の改善 が可能！

②短鎖脂肪酸分析：前処理フロー

20 mLバイアル

— コーヒー 500 μ L

— 40 mM HCl-水 2 mL

ボルテックス

バイアルトレイにセット



全自動前処理

Flash-SPE AXs

気相サンプリング

加温：80℃

吸引量：10 mL×2回

(インターバル5分※気化平衡待ち)

窒素パージ 90秒

固相誘導体化：5%MTBSTFA/ヘキサン, 1分

溶出：ヘキサン

GC/MS分析

約25分/検体

コンディショニング

アセトン

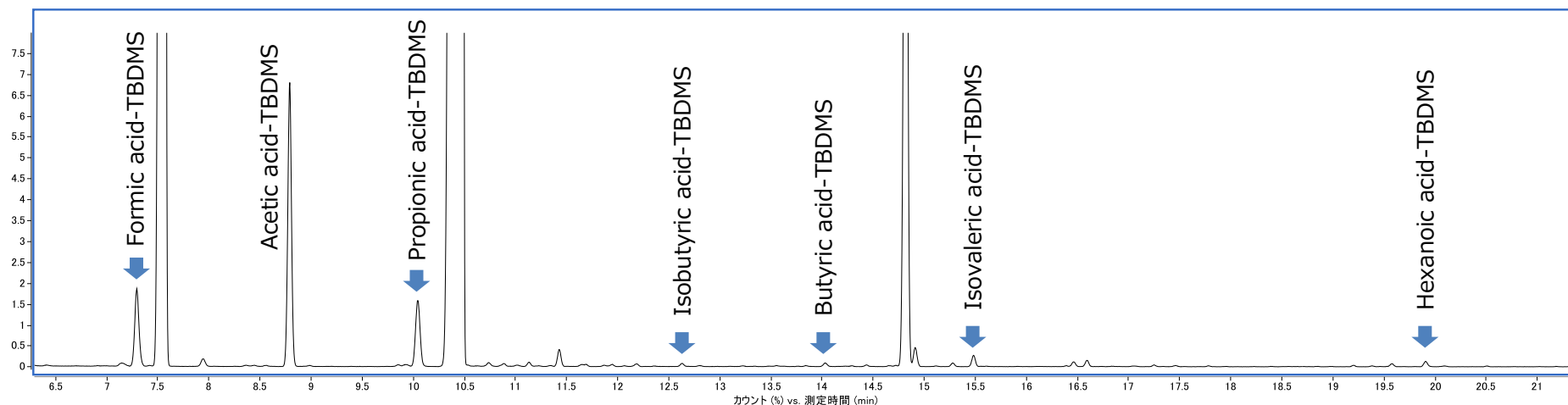
ヘキサン

窒素パージ

②短鎖脂肪酸分析：GC-MS条件

固相カートリッジ	Flash-SPE AXs
注入口	LVI-S250 (アイスティサイエンス)
インサート	スパイラルインサート (アイスティサイエンス)
注入口温度	220℃ (0.5 min) -100℃/min-290℃
注入条件	スプリット (50:1)
ガスクロマトグラフ	7890B (Agilent)
流量制御	コンスタントフロー, 1.0 mL/min
プレカラム	0.25 mm i.d. × 0.5 m
分析カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.5 μm
オープン温度	60℃ (2 min) -5℃/min-160℃-30℃/min-310℃ (2 min) , Total 29 min
トランスファーライン	290℃
質量分析計	5977B (Agilent)
イオン源温度	260℃
データ取得モード	Scan (m/z 33-350)

②短鎖脂肪酸分析



図：固相捕集-誘導体化-溶媒溶出法によるトータルイオンクロマトグラム（試料：コーヒー5倍希釈、2.5mL）

表：固相捕集-誘導体化-溶媒溶出法による検出ピーク面積値（試料：コーヒー5倍希釈、2.5mL）

Metabolite name	m/z	1	2	3	4	5	Average (n=5)	RSD% (n=5)
Formic acid-TBDMS	103	686,353	596,374	749,783	735,245	679,104	689,372	8.7
Acetic acid-TBDMS	117	1,885,635	1,707,465	1,971,413	1,930,730	1,945,233	1,888,095	5.6
Propionic acid-TBDMS	131	116,015	100,783	125,040	110,380	108,585	112,160	8.1
Isobutyric acid-TBCMS	145	14,703	11,366	15,258	12,185	11,999	13,102	13.4
Butyric acid-TBDMS	145	19,162	15,654	20,598	17,786	16,393	17,918	11.2
Isovaleric acid-TBDMS	159	88,633	67,353	98,255	79,137	68,774	80,430	16.4
Valeric acid-TBDMS	159	2,418	1,413	1,549	1,730	1,227	1,667	27.5
Hexanoic acid-TBDMS	173	3,143	2,214	2,805	2,104	1,971	2,447	20.5

誘導体化の有無による検出結果の比較

固相捕集-溶媒溶出法 と 固相捕集-誘導体化-溶媒溶出法ではどちらが良い？

アソートパック4種
コーヒー粉1g + 水10mL
80℃抽出



誘導体化なし

抽出液4倍希釈8mL + 塩3g
固相：Flash-SPE PBX
気相20mLサンプリング

誘導体化あり



- ・ 大量注入可能
- ・ 高極性成分の保持 (WAX)
- ・ 最高使用温度の制限
- ・ におい嗅ぎでの定性

各手法の特徴

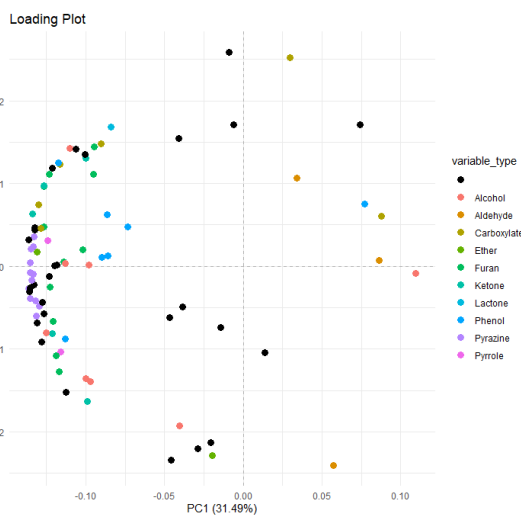
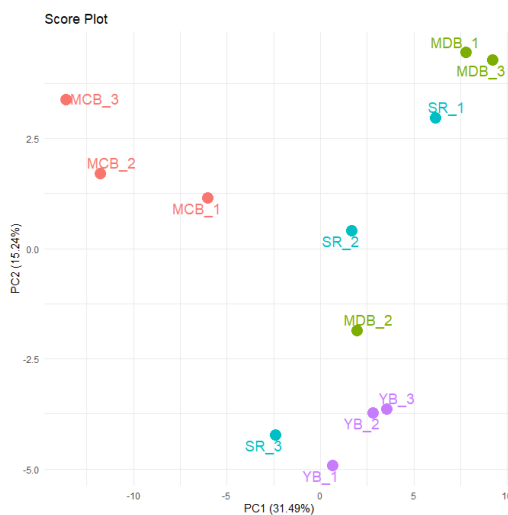


- ・ スプリット分析
- ・ ピーク形状 & 分離改善
- ・ 高温での焼き出し
- ・ 汎用カラムでの分析

主成分分析によるコーヒーの差異比較

誘導体化なし

WAX, 60 m
52.5分/検体



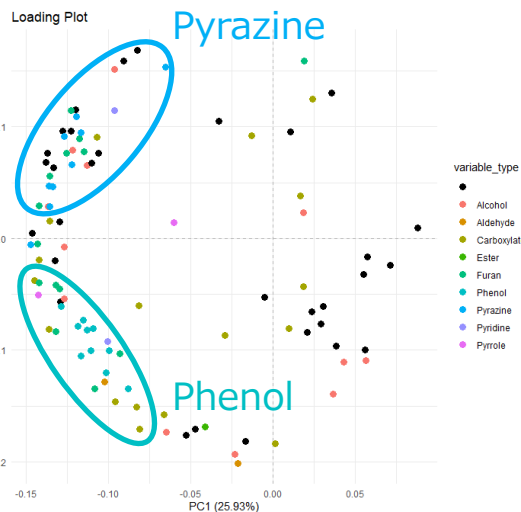
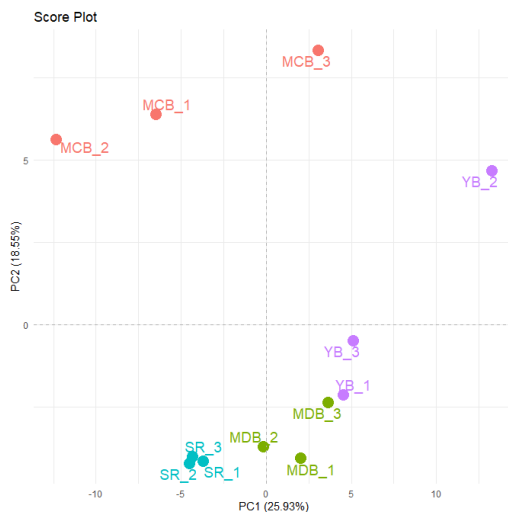
コーヒーアソートパック4種
コーヒー粉1g+水10mL
80℃で抽出

抽出液4倍希釈8mL+塩3g

固相：Flash-SPE PBX
気相20mLサンプリング

誘導体化あり

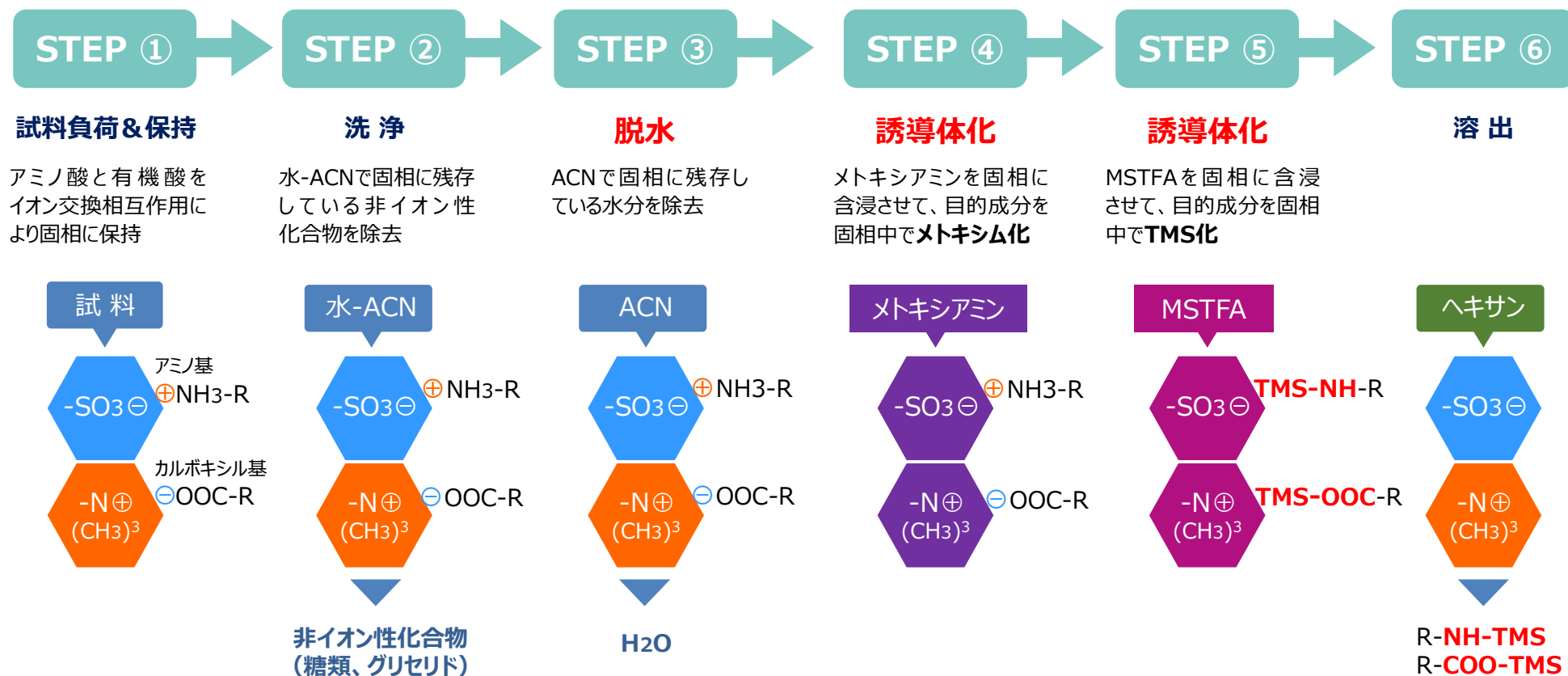
5ms, 30 m
24.0分/検体



固相誘導体化によって異なる
パターンのクロマトグラムを
得ることができ、サンプル間
の差やその解釈が容易になる
可能性が示された。

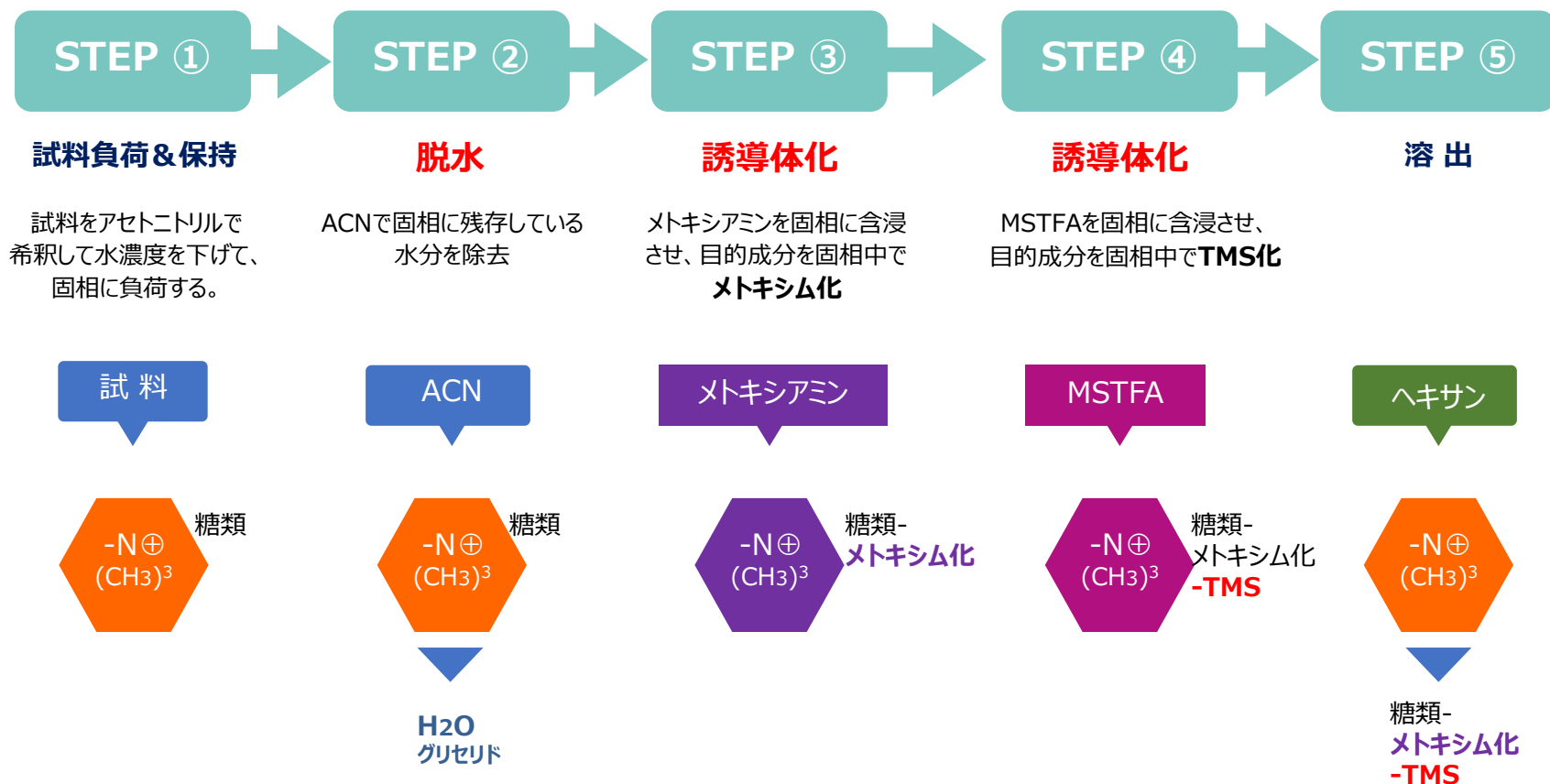
呈味分析について

③固相脱水誘導体化法：アミノ酸有機酸



特許登録：(株)アイスティサイエンス

③ 固相脱水誘導体化法：糖類



特許登録：（株）アイスティサイエンス

③メタボローム分析：前処理フロー

1.5 mLバイアル

— コーヒー 50 μ L

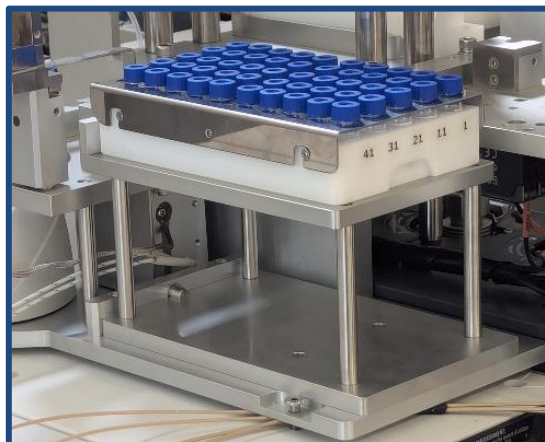
— 0.1M NaOH 20 μ L

— 超純水 130 μ L

— アセトニトリル 800 μ L

ボルテックス

バイアルトレイにセット



全自動前処理

(アミノ酸有機酸分析)

約15分/検体

試料抽出液 50 μ L

コンディショニング
ACN-水(1/1)

Flash-SPE ACXs (イオン交換固相)

— 洗浄 : ACN-水(1/1)

— 洗浄 : ACN (脱水)

— 誘導体化試薬を含浸 (固相誘導体化反応)
5 mg/mL メトキシアミン-ピリジン, 3 min

— 誘導体化試薬を含浸 (固相誘導体化反応)
MSTFA/ヘキサン(1/1), 1 min

溶出 : ヘキサン

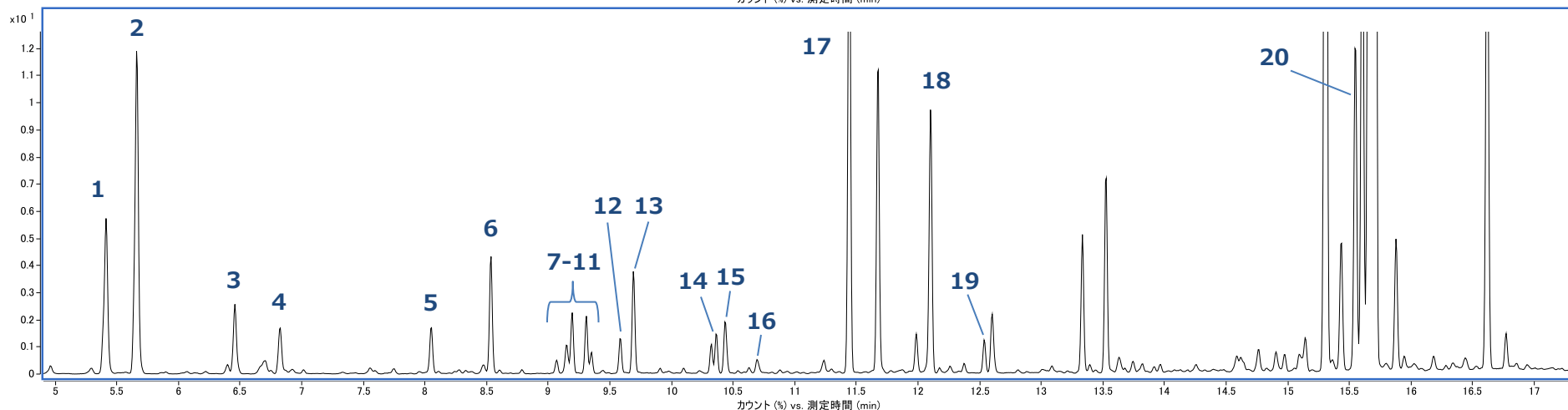
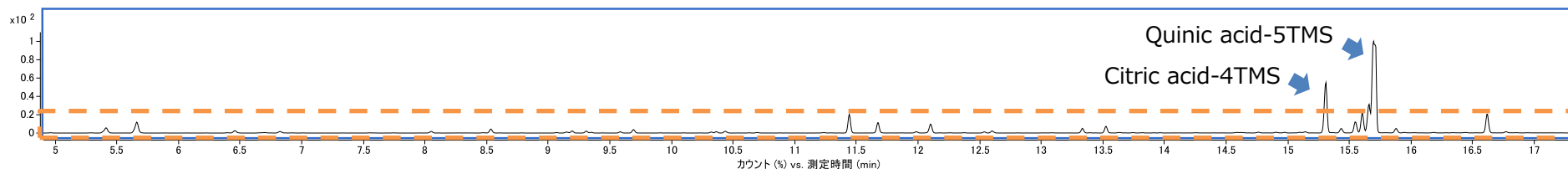
全量注入

測定 : GC-MS

③メタボローム分析：GC-MS条件

固相カートリッジ	Flash-SPE ACXs
注入口	LVI-S250 (アイスティサイエンス)
インサート	スパイラルインサート (アイスティサイエンス)
注入口温度	220℃ (0.5 min) -100℃/min-290℃
注入条件	スプリット (50:1)
ガスクロマトグラフ	7890B (Agilent)
流量制御	コンスタントフロー, 1.0 mL/min
プレカラム	0.25 mm i.d. × 0.5 m
分析カラム	VF-5ms, 0.25 mm i.d. × 30 m, df=0.5 μm
オープン温度	100℃ (2 min) -10℃/min-320℃ (2 min) , Total 26.0 min
トランスファーライン	290℃
質量分析計	5977B (Agilent)
イオン源温度	260℃
データ取得モード	Scan (m/z 70-600)

③メタボローム分析（アミノ酸有機酸）



1. Lactic acid_2TMS
2. Glycolic acid_2TMS
3. Oxalic acid_2TMS
4. 3-Pyridinol_TMS
5. 4-Hydroxybutyric acid_2TMS
6. Phosphoric acid_3TMS
7. Maleic acid_2TMS
8. Nicotinic acid_1TMS
9. Succinic acid_2TMS

10. Glyceric acid_3TMS
11. Methylsuccinic acid_2TMS
12. Itaconic acid_2TMS
13. Fumaric acid_2TMS
14. Methylmaleic acid_2TMS
15. 3-Deoxytetronic acid_3TMS
16. 2-Deoxytetronic acid_3TMS
17. Malic acid_3TMS
18. Pyroglutamic acid_2TMS

19. 2-Hydroxyglutaric acid_3TMS
20. 3-Deoxyhexonic acid_5TMS

図：固相脱水誘導体化法による
アミノ酸有機酸分析のクロマトグラム
(試料：コーヒー20倍希釈、50μL)

③メタボローム分析：再現性

表：固相脱水誘導体化法により検出された**アミノ酸有機酸**のピーク面積値と再現性（試料：コーヒー20倍希釈、50μL）

Metabolite name	1	2	3	4	5	6	Average	RSD%
Lactic acid_2TMS	341,963	296,870	315,675	320,359	295,609	347,764	319,707	6.9
Glycolic acid_2TMS	1,003,244	884,333	916,389	930,711	896,522	989,895	936,849	5.2
Oxalic acid_2TMS	188,919	173,561	201,879	207,989	204,209	209,821	197,730	7.1
2-Furoic acid_TMS	36,315	34,746	34,422	35,821	36,121	37,862	35,881	3.4
3-Pyridinol_TMS	183,655	169,595	168,383	170,718	166,638	182,084	173,512	4.3
Malonic acid_2TMS	1,424	1,478	1,539	1,390	1,546	1,694	1,512	7.2
5-Hydroxy-2-methylpyridine_TMS	16,711	15,858	15,379	16,014	16,132	17,544	16,273	4.7
Phosphoric acid_3TMS	300,676	288,602	284,033	272,582	306,710	323,399	296,000	6.1
Maleic acid_2TMS	39,213	39,030	38,936	40,599	41,824	43,074	40,446	4.2
Nicotinic acid_1TMS	72,824	72,585	71,073	75,277	77,213	78,051	74,504	3.7
Succinic acid_2TMS	175,677	173,628	173,974	182,704	186,613	193,265	180,977	4.4
Glyceric acid_3TMS	87,549	85,790	83,840	89,443	92,867	97,466	89,492	5.6
Methylsuccinic acid_2TMS	5,968	5,628	5,570	6,586	6,334	6,399	6,081	7.0
Itaconic acid_2TMS	89,990	89,383	87,582	94,127	97,672	98,213	92,828	4.9
Fumaric acid_2TMS	189,617	193,265	189,987	199,566	209,799	213,004	199,206	5.1
Methylmaleic acid_2TMS	35,925	36,346	35,688	38,225	39,144	39,989	37,553	4.8
3-Deoxytetronic acid_3TMS	72,474	74,646	72,164	74,037	78,475	80,836	75,438	4.6
2-Deoxytetronic acid_3TMS	12,350	13,664	13,575	14,391	15,462	15,219	14,110	8.2
Malic acid_3TMS	964,648	963,083	964,141	1,058,900	1,113,814	1,130,350	1,032,489	7.6
Pyroglutamic acid_2TMS	806,271	816,296	784,564	809,178	849,038	900,554	827,650	5.0
Citric acid_4TMS	1,741,087	1,716,036	1,801,123	1,863,578	1,914,459	1,986,103	1,837,064	5.7
3-Deoxyhexonic acid_5TMS	893,709	900,804	887,960	915,502	969,770	1,034,106	933,642	6.2
Quinic acid_5TMS	4,719,499	4,666,922	4,656,683	4,735,084	4,746,064	4,818,448	4,723,783	1.2

表：固相脱水誘導体化法により検出された**糖類**のピーク面積値と再現性（試料：コーヒー20倍希釈、50μL）

Metabolite name	1	2	3	4	5	6	Average	RSD%
Caffeine	70,613	58,321	67,073	64,108	68,105	72,538	66,793	7.6
Mannitol_6TMS	2,619	2,138	2,161	2,424	2,138	2,042	2,254	9.8
myo-Inositol_6TMS	26,046	20,461	22,677	21,769	21,811	21,908	22,445	8.5
Sucrose_8TMS	8,589	6,746	7,884	8,011	7,660	8,111	7,834	7.9

コーヒーの分析結果総括

分析法	成分数※
香気成分分析	46
短鎖脂肪酸分析	8
アミノ酸・有機酸分析	23
糖類分析	4
合計	81

※ ライブラリのスペクトル類似度とピーク形状やブランク強度比などの確認により同定した成分

1 台のGC/MSおよびカラムで幅広い種類の成分を測定することができた

ご清聴ありがとうございました

ホームページにて製品情報・技術情報を多数公開中！！
詳細はHPの下記フォームよりお問い合わせください



株式会社
アイスティサイエンス

Tel.073-475-0033

イベント

サポートお問合せ

その他お問合せ

Metabolomics ソリューション 製品情報 分析方法 アプリケーションノート ピックアップ 会社概要 テクニカルサポート