

### ユーザーベネフィット

- ◆ 10分の前処理、23分の分析で高いスループットを実現
- ◆ TraverseMS™と組み合わせにより、多変量解析を含み5分で完了
- ◆ 糖を選択的に除去することで、突沸や誘導体化試薬のクエンチングを防ぐだけでなく、装置の清浄を維持

### ■はじめに

出汁や甘味飲料など糖を多く含む試料の有機酸やアミノ酸を分析する際、前処理過程で問題が起こることがあります。例えば、凍結乾燥の工程で突沸を起こしてサンプルをロスしたり、誘導体化試薬を添加する工程で糖により誘導体化試薬が消費されアミノ酸の再現性が悪くなる可能性があります。

このような問題を避けるために、サンプル量を減らしたり、希釈したり、スプリット比を上げたりと様々な工夫をしますが、前処理過程以外でも糖は質量分析計にまで達し、汚染することが知られています。差動排気を備えた当社のGC-MSでは堅牢性がありチューニングで補正できますが、糖を選択的に除去する事が望ましいと言えます。

本報では、株式会社アイスティサイエンスのPresh-SPEによる固相誘導体化法を用いて、糖分の多いカフェラテに含まれる有機酸とアミノ酸を分析した結果を報告します。

表1 装置構成

GC-MS	: GCMS-TQ 8040 NX
オートインジェクタ	: AOC-20i Plus
オートサンブラ	: AOC-20s Plus
分析カラム	: BPX-5 (30 m × 0.25 mm I.D., df=0.25 μm) P/N : 054101

表2 分析条件

<b>GC</b>	
気化室温度	: 250 °C
注入モード	: スプリット
スプリット比	: 30
キャリアガス	: ヘリウム
制御モード	: 線速度一定 (39.0 cm/s)
カラムオープン温度	: 60 °C (1分) → (15 °C /分) → 330 °C (1分) 合計 23.0 分
パージ流量	: 5 mL/分
試料注入量	: 1 μL
<b>MS</b>	
イオン源温度	: 200 °C
インターフェイス温度	: 280 °C
測定モード	: MRM
MRM測定イオン ( <i>m/z</i> )	: Smart Metabolites Database参照

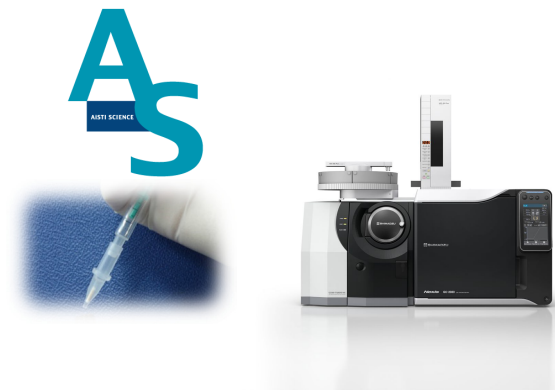


図1 Presh (左) と GCMS-TQ™M8040 NX (右)

### ■試料の前処理

市販のカフェラテ中の有機酸とアミノ酸を2つの異なる前処理で抽出しました。

まず1つ目は島津製作所メタボロミクス前処理ハンドブック (文書番号C146-2181) に沿って、Bligh and Dyer抽出溶液で抽出し遠心で徐タンパクを行いメタノールを遠心濃縮で蒸発させた後、抽出液を一晩乾燥凍結し翌日メトキシム化とTMS化を行いました。前処理は1.5日かかりました。

次に同じカフェラテ試料をPresh-SPE ACX (P/N SA-5589-003、株式会社アイスティサイエンス) の操作説明に従って、50 μLのサンプルを固相に乗せ固相上でメトキシム化とTMS化を行いました。前処理はおよそ10分/サンプルで完了しました。

アノテーションの確度、ピーク形状の良さ、それに伴う解析時間の工数削減のためにトリプル四重極質量分析計を用いてMRMモードで測定しました (表1、2)。

## ■結果

島津前処理ハンドブックに沿った前処理法と固相誘導体化法のいずれの方法でもカフェオレから検出された有機酸とアミノ酸の数はほぼ同等でした（表3）。

表3 有機酸とアミノ酸の検出数

# of cpds found	Conventional	Presh
Organic Acid	41	40
Amino Acid	7	7

再現性 (n=5) についても前処理ハンドブックに沿った前処理法と固相誘導体化法のいずれの方法でもほぼ同等でした（表4）。糖が多い試料にも関わらずサンプル量を減らしたり希釈をしたりせずに前処理したためアミノ酸の再現性は固相誘導体化法の方が良い結果になりました。

表4 有機酸とアミノ酸の再現性

% RSD	Conventional	Presh
Organic Acid	18.0	25.2
Amino Acid	47.2	27.2

図2のクロマトグラムで示されているように糖の多い試料でしたが糖の値が数オーダー減少していることが分かります。誘導体化試薬のクエンチングを避けるだけでなく装置を綺麗に保つ役割も果たします。

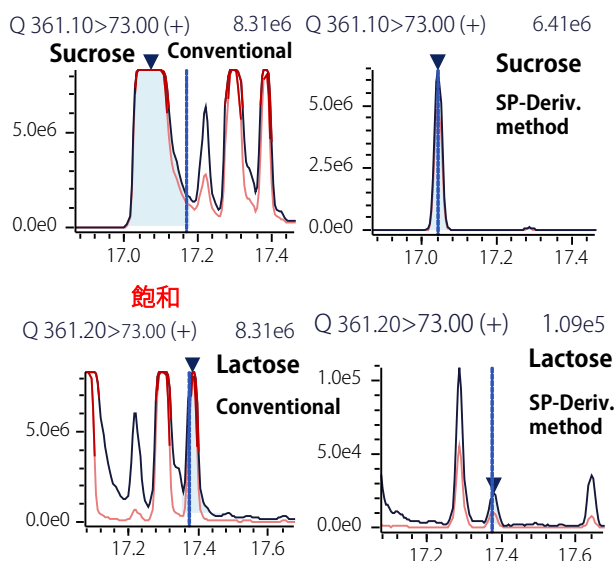


図2 糖除去の結果

Smart Metabolites Database™には有機酸やアミノ酸の他に脂肪酸や核酸や糖も含まれております。島津前処理ハンドブックに沿った前処理法と固相誘導体化法ではほぼ同等のトータル化合物数が検出されました。

多変量解析の場合、データの前処理（欠損値処理、p値による変数処理、相関関係による変数処理、正規分布による変数処理など）を必ず行うことと検体数の多さを考えれば変数121と102の差はあまりないと考えられます。

表5 検出されたトータルの化合物数

# of cpds detected	Conventional	Presh
Total	121	102

10分/サンプルの前処理と23分のMRM分析だけでなく、解析の高速化もTraverseMS (Reifycs社)を組み合わせることで可能です。MRMPROBSアルゴリズムを利用することでデータ読み込みからおよそ5分で多変量解析結果を出力します。

## ■まとめ

糖を多く含む試料は前処理過程で問題を起こすことが知られています。しかし糖を選択的に除去することは従来困難とされてきました。

株式会社アイスティサイエンスのPresh-SPEによる固相誘導体化法を用いて糖分の多いカフェラテに含まれる有機酸とアミノ酸を分析したところ、検出数や再現性において島津製作所の前処理ハンドブックとほぼ同等の結果が得られました。

前処理時間は10分/サンプルと従来の1.5日より桁違いに高速で、Smart Metabolites Databaseの23分のMRMワイドターゲット分析と組み合わせることで、非常に効果的なスクリーニング法となります。

株式会社アイスティサイエンスの佐々野僚一代表には固相誘導体化法の進め方や仕組みについて有益な助言を頂きました。心より感謝申し上げます。

GCMS-TQ、GCMS-OP、およびSmart Metabolites Databaseは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。TraverseMSは、ライフィクス株式会社の商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部  
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2020年11月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>  
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録ください。  
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

© Shimadzu Corporation, 2020