

## Technical Report

# ダイナミックヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析計を用いた血中微量揮発性成分分析

Trace Volatile Compounds Profiling in Blood by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Dynamic Headspace Extraction

角田 省二<sup>1</sup>、福崎 英一郎<sup>1</sup>、馬場 健史<sup>1,2</sup>

### Abstract:

血液には様々な揮発性成分が存在し、タンパク質や核酸などの付加体形成のみならず二次メッセンジャーとして生体機能を調節することが明らかとなり、血中揮発性成分プロファイリングが注目されていた。これまで揮発性成分分析においてヘッドスペース固相マイクロ抽出法、HS-SPME法が用いられてきた。HS-SPME法はファイバー（コーティング相）を気相に露出して揮発性成分の抽出を行う静的な手法である。この時、抽出操作は揮発性成分の平衡移動に則るため、抽出ファイバーと相互作用が強い揮発性成分が強調されたプロファイルとなってしまふ。そこで、本レポートではダイナミックヘッドスペース法、DHS法に注目した。DHS法は気相を不活性ガスで強制的にパージし、揮発性成分を吸着剤に捕集する動的な抽出方法である。気相成分のほぼ全量を捕集することが可能であるため、揮発性成分を効率よく捕集することが可能となり、従来法に比べて幅広い成分を分析できると示唆された。まず、揮発性成分混合標準品を用いてHS-SPME法とDHS法の揮発性成分プロファイリングの比較をした結果、DHS法を適用することでHS-SPME法では分析が困難だったアルコール類を含むすべての揮発性成分を検出することができた。またバリデーションの結果、ngオーダーで揮発性成分を検出することが可能であることが示された。そして本システムをIL10ノックアウトマウス血しょうに適用した結果、40化合物の揮発性成分を検出し、そのうち15化合物はサンプル間で有意な差が確認された。本システムにより高感度な揮発性成分プロファイリングが可能となり、今後クリニカルリサーチに適用されることが期待される。

**Keywords:** GC/MS、Metabolomics、Volatile、Dynamic Headspace Extraction

## 1. はじめに

血液には様々な揮発性成分が存在し、古くから「におい」をもとに病気の判別が行われてきた。例えば、糖尿病患者では疾患による代謝変動により、血液内にアセトンなどのケトン化合物が増加し、りんごのような甘いにおいが知られている。このように疾患特有の揮発性成分を同定することで揮発性成分バイオマーカー候補として利用できると考えられており、これまでも酸化ストレスマーカーとしてMalondialdehydeや4-Hydroxy-2-nonenalなどが注目されており、また肺がん患者の血液からHexanalやNonanalなどが報告されていた。

近年、揮発性成分がタンパク質や核酸などの付加体形成による細胞内情報伝達系の錯乱や変異誘発などを引き起こすとともに、揮発性成分が二次メッセンジャーとして生体内機能の調節に関与していることが明らかとなった。例えば、遺伝子発現の亢進や動脈硬化発症の初期過程におけるマクロファージ泡沫化に関与することが報告されていた。揮発性成分は血液を介して呼吸や尿などへ拡散されるため、血中揮発性成分解析により組織障害や疾患などの早期診断や判別、長期モニタリングなどが可能になると期待されてきた。

従来の揮発性成分測定法としてヘッドスペース固相マイクロ抽出法、HS-SPME法が用いられてきた (Fig. 1)。HS-SPME法は、

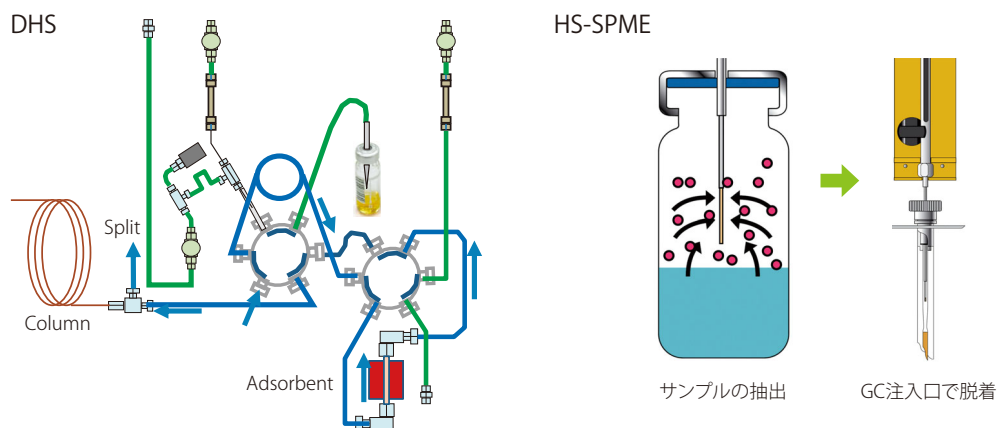
ポリマーや吸着剤が化学結合またはコーティングされたファイバーを用いる。バイアルに封入した試料を加温し、揮発性成分を気相に移動させる。そしてSPMEファイバーを気相中に露出することで、揮発性成分の抽出、濃縮を行う。分析対象試料も固体、液体そして気体のいずれかからも抽出が可能であり、抽出から分析までの操作が単純であるため、これまで様々な試料に適用されてきた。

しかしHS-SPME法は、揮発性成分とコーティング相との分配係数に則る静的な抽出方法であるため、血液など夾雑物が多く含まれる試料の場合、揮発性成分の回収率が低下する問題があった。特にアルコール類などの水酸基を有する揮発性成分の場合は、水との相互作用により液相に分配されやすく検出感度が低くなる問題があった。高温で平衡化することで揮発性成分を強制的に気相に移動させることは可能であるが、抽出ファイバーも同時に高温に晒されてしまうため、全体の検出感度が低下することが報告されていた。そのため、HS-SPME法で得られる揮発性成分プロファイルは抽出ファイバーと相互作用が強い成分が強調されてしまう問題があった。

揮発性成分の動的な抽出方法としてダイナミックヘッドスペース法、DHS法 (Fig. 1) がある。DHS法は、気相の揮発性成分を不活性ガスで強制的にパージを行い、揮発性成分を吸着剤に捕集する動的な抽出方法である。HS-SPME法では液相、気相、コーティング相それぞれの平衡移動に依存するため、温度や圧力により分配平衡が変動してしまうが、DHS法は気相部分のほぼ全量をパージガスにより吸着剤で捕集することが可能である。そのため様々な揮発性成分を効率よく捕集することが可能となる。血液に含まれる揮

発性成分はごく微量であり、また多種多様であるため、幅広い揮発性成分を効率よく捕集できるDHS法は血中揮発性成分の網羅的な解析のための前処理手法として好適であると考えられた。

本レポートでは、まず揮発性成分標準品を用いてSPME法とDHS法の比較を試みた。そして、揮発性成分混合標準品を用いてDHS法のバリデーションを行った。最後に、DHS-GC/MSを用いてマウス血しように含まれる揮発性成分分析を行った。



項目	DHS	HS-SPME
特徴	低沸点から高沸点まで吸着剤の破過容量まで均一に濃縮される 	吸着が競合するので濃縮率が不均一 
濃縮率	静的HS法の5~50倍	静的HS法の2~5倍

Fig. 1 DHS法とSPME法の原理図と特徴

## 2. 実験

### 2-1. 試薬

50種類の揮発性成分標準品をアセトンで溶解させて、濃度が100 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ になるように混合標準品を調製した。内部標準物質として100 ng  $\mu\text{L}^{-1}$ の1,1,1,3,3,3-Hexafluoro-2-propanolを用いた。添加回収試験ではマウス血しようを用いて、実サンプル分析ではIL10ノックアウトマウス血しようを用いた。これは加齢性慢性炎症であるクローン病モデルとして用いられており、炎症が軽微であった8週齢と、炎症が顕著に進行した16週齢のIL10ノックアウトマウス (N=6) から血しようを回収した。対照群は8週齢のC57BL/6J野生型マウスを用いた。

### 2-2. 分析サンプルの調製方法

揮発性成分混合標準品分析では、20 mLバイアルにリン酸緩衝生理食塩水1 mLと炭酸カリウム1.4 gを添加した。その後、揮発性

成分混合標準品と内部標準物質をそれぞれ1  $\mu\text{L}$ 添加した。マウス血しよう分析では、20 mLバイアルにリン酸緩衝生理食塩水900  $\mu\text{L}$ と炭酸カリウム1.4 gを添加した。その後、マウス血しよう100  $\mu\text{L}$ 添加した。これに内部標準物質を1  $\mu\text{L}$ 添加した。調製したサンプルはすぐにクリンキャップで密封した。セパタムは直径20 mmのsilicone/PTFE high temperature sealsを用いた。

### 2-3. SPME、DHS-GC/MS分析条件

HS-SPME抽出では、まずバイアルを50°Cウォーターバスに10分間加熱し、平衡化を行った。平衡化後、DVB/CAR/PDMSファイバー (2 cm 50/30  $\mu\text{m}$ , Supelco) を5分間、バイアルの気相に露出し揮発性成分の抽出を行った。抽出操作後、2分間ファイバーを注入口に露出させて熱脱着を行った。注入条件はスプリットレスで、注入口温度は280°Cに設定した。DHS-GC/MS分析条件はTable 1に示した。Scan/SIMメソッドは、メソッド最適を行うソフトウェア機能SmartSIMを用いてDwell timeの最適化を行った。

Table 1 分析条件

ヘッドスペースサンプラ	: HS-20Trap		
GC-MS	: GCMS-TQ8030		
<b>HS-20</b>		<b>GC</b>	
モード	: トラップ	カラム	: InertCap 5MS/NP (0.25 mm × 30 m, 1 μm) -InertCap WAX-HT (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)
バイアル保温	: 50 °C	カラムオープン温度	: 50 °C (3 min) – 5 °C/min – 230 °C (1 min)
バイアル攪拌	: ON (3)	注入モード	: スプリット (1:10), 高圧注入360 kPa, 2 min
バイアル加圧時間	: 2 min	キャリアガス	: ヘリウムガス
ロード時間	: 1 min	制御モード	: 線速度30 cm/s
注入時間	: 2 min	APC1	: 100 kPa
ニードルフラッシュ時間	: 5 min	APC3	: 65 kPa
サンプルライン温度	: 150 °C	<b>MS</b>	
トラップ管	: Tenax GR (50 mg, 60–80 mesh)	インターフェース温度	: 230 °C
保温時間	: 10 min	イオン源温度	: 230 °C
抽出回数	: 5	測定モード	: Scan/SIM
加圧平衡化時間	: 0.1 min	スキャンイベント時間	: 0.1 s
ロード平衡化時間	: 0.1 min	スキャン質量範囲	: <i>m/z</i> 35–300
熱脱着温度	: 280 °C	SIMイベント時間	: 0.2 s
トランスファーライン温度	: 150 °C		
トラップ冷却温度	: -10 °C		
トラップ待機温度	: 25 °C		
ドライバージ時間	: 10 min		
GCサイクルタイム	: 60 min		

### 3. 結果

#### 3-1. SPME法とDHS法の比較結果

HS-SPME法は各相の分配平衡に則る静的な抽出方法であり、抽出ファイバーと相互作用が強い揮発性成分が強調されたプロファイルとなることが指摘されていた。対して、DHS法は気相を強制的にパージし、揮発性成分を吸着剤に捕集するため効率よ

く揮発性成分を抽出、濃縮することが可能であると考えられた。そこで、揮発性成分混合標準品を用いて各抽出法の比較を行い、得られる揮発性成分プロファイルの違いを検討した。分析結果はFig. 2にまとめた。

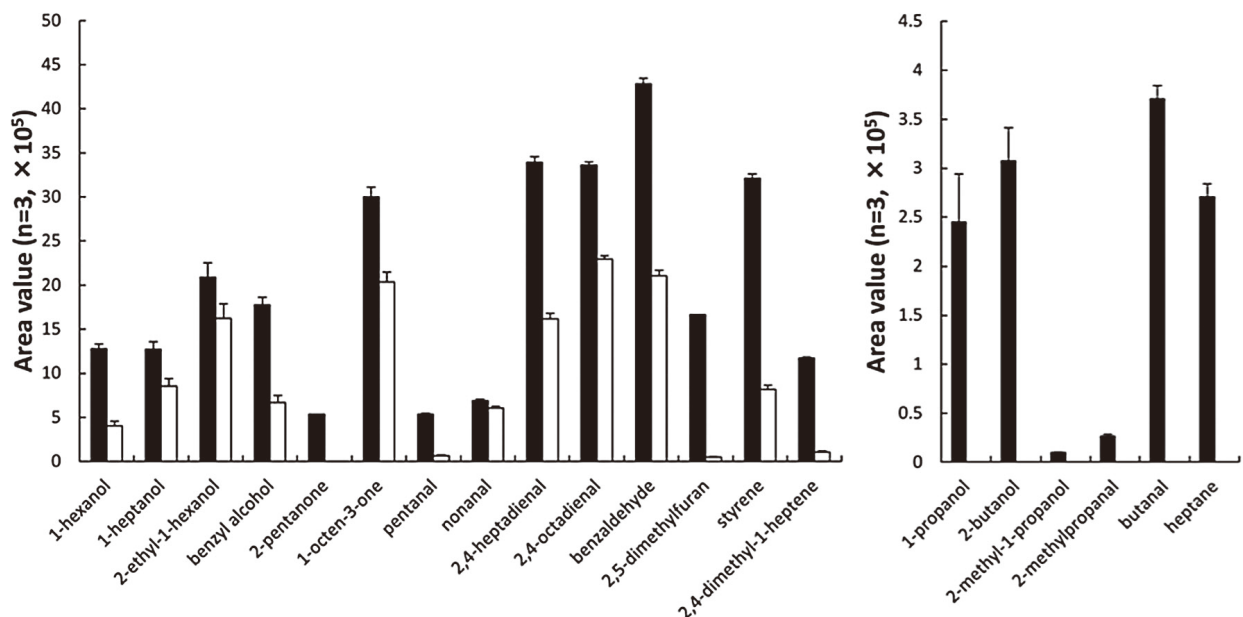


Fig. 2 DHS法とHS-SPME法の比較 黒：DHS法、白：HS-SPME法

分析の結果、DHS法を用いた場合はすべての揮発性成分を検出することができた。HS-SPME法では、1-Propanol、2-Butanol、2-Methyl-1-propanol、1-Penten-3-ol、2-Pentanone、2-Methylpropanal、3-Methylbutanal、2-Methylbutanal、2-Pentanalは検出されなかった。また、3-Methyl-1-butanolや4-Methyl-2-pentanol、2-Penten-1-olはDHS法に比べて面積値が1/10倍となることが確認された。しかし、2-Ethyl-1-hexanolや

1-Octen-3-oneなどの揮発性成分はDHS法とHS-SPME法で同等の面積値となることが確認された。各抽出法における化合物の平均RSD値を比較した所、DHS法は8%、HS-SPME法は20%であった。

DHS法を用いることで、HS-SPME法で分析が困難だったアルコール類などを含む様々な揮発性成分を高感度に検出可能であることが示せた。

### 3-2. 揮発性成分混合標準品を用いたDHS法の評価結果

次に揮発性成分混合標準品を用いてDHS-GC/MSのバリデーションを行った。バリデーションは、直線性、R<sup>2</sup>、LOD、LOD付近のRSD値、日内変動、添加回収試験の6項目を検討した。一般的にLODはS/N比が3となる濃度と定められているが、DHS-GC/MSではトルエンなどブランク試料でS/N比>3となる揮発性成分が存在した。そのため、本研究ではIUPACで定められた定量値の標準

偏差および検量線の傾きに基づく計算式、 $LOD = 3.3 \times SD / slope$ を採用した。RSD値は、検量線作成時の揮発性成分混合標準品濃度、0, 0.1, 0.5, 1, 10, 25, 50, 100 ng mL<sup>-1</sup>、のうち最もLODに近い濃度の分析結果から算出した。添加回収実験では、揮発性成分混合標準品を100 μL マウス血しようにスパイクして検討を行った。バリデーション結果をFig. 3、Table 2にまとめた。

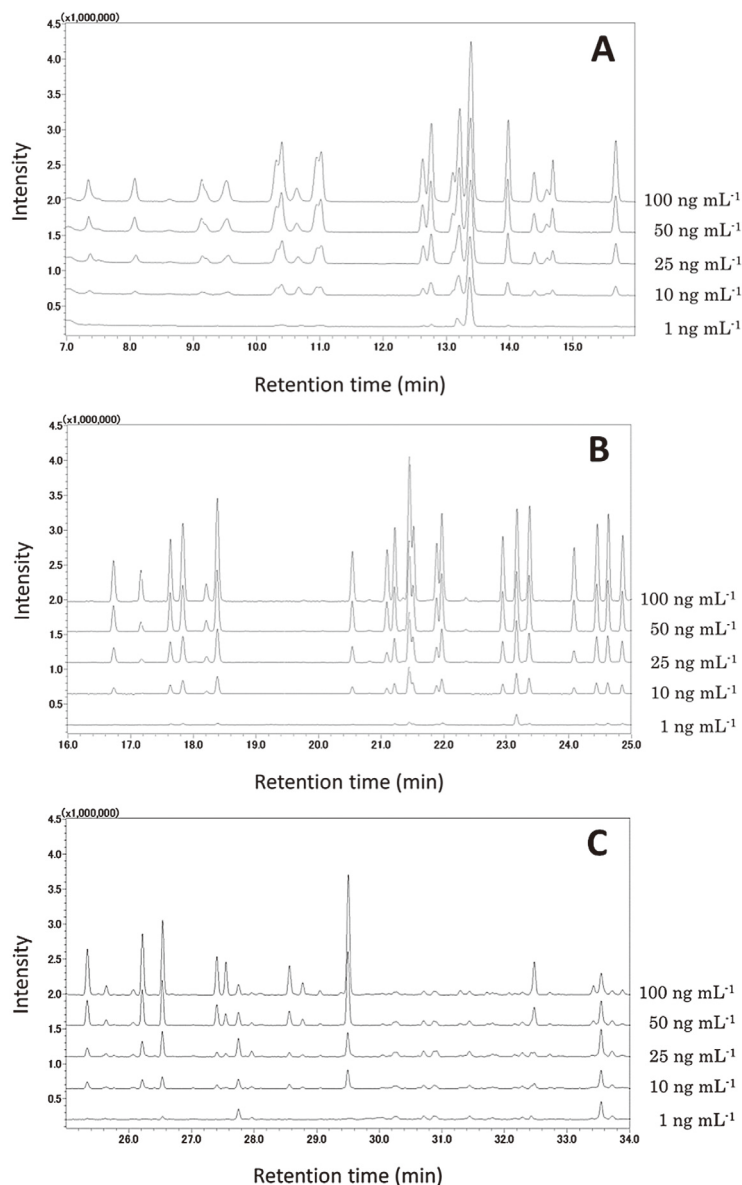


Fig. 3 揮発性成分混合標準品のトータルイオンカレントクロマトグラム  
A: 7–16分、B: 16–25分、C: 25–34分

Table 2 DHS-GC/MSのバリデーション結果

Compound	Target <i>m/z</i>	Slope	Intercept	R <sup>2</sup>	Linear (ng mL <sup>-1</sup> )	LOD (ng mL <sup>-1</sup> )	RSD (%)*	RSD (50 ng mL <sup>-1</sup> )		Recovery (25 ng mL <sup>-1</sup> , n=3)	
								intraday (n=3)	Average (%)	RSD (%)	
<b>Alkane</b>											
Heptane	71	7353	2437	0.9997	0–10	0.14	3.0 b	3.1	105	6	
2,4-Dimethyl-1-heptene	55	14292	8590	0.9991	0–100	0.08	14 a	1.6	98	1.4	
<b>Alcohol</b>											
1-Propanol	59	2612	1743	0.9960	0–50	0.32	8.4 b	9.3	85	13	
2-Butanol	45	3836	1531	0.9998	0–100	0.07	14 a	7.4	95	11	
2-Methyl-1-propanol	41	115	34	0.9989	1–100	4.20	11 d	6.9	147	15	
1-Butanol	41	13499	33574	0.9950	0–100	0.31	5.5 b	6.3	96	7.9	
1-Penten-3-ol	57	41632	42049	0.9984	0–100	0.08	15 a	6.8	94	11	
3-Methyl-1-butanol	55	16560	18299	0.9981	0–100	0.08	21 a	5.8	93	10	
4-Methyl-2-pentanol	45	48338	67615	0.9969	0–100	0.06	12 a	5.5	98	9.4	
1-Pentanol	55	28655	30427	0.9986	0–100	0.09	15 a	6.0	92	9.3	
2-Penten-1-ol	57	12086	6758	0.9996	0–100	0.09	25 a	5.7	84	8.6	
1-Octen-3-ol	57	28041	19704	0.9992	0–100	0.20	6.8 b	3.6	90	7.4	
1-Hexanol	56	14910	14651	0.9990	0–100	0.15	5.0 b	4.5	90	8.6	
1-Heptanol	55	14543	8829	0.9997	0–100	0.28	11 b	3.6	88	8.5	
2-Ethyl-1-hexanol	57	21992	260285	0.9996	0–100	3.71	11 d	3.8	84	2.2	
1-Nonen-4-ol	55	36095	8761	0.9997	0–100	0.08	19 a	3.7	87	8.3	
1-Octanol	55	14541	7333	0.9997	0–100	0.51	20 b	3.5	89	9.1	
2-Octen-1-ol	57	11441	281	0.9994	0–100	0.33	20 b	3.6	82	8.6	
Benzyl alcohol	79	20360	62381	0.9994	0–100	0.58	8.0 b	3.8	77	6.0	
<b>Ketone</b>											
2-Pentanone	43	6122	3925	0.9976	0–100	0.11	7.0 b	3.7	100	2.7	
1-Octen-3-one	55	12077	-3209	0.9993	0–50	0.49	20 b	14	71	2.4	
2-Octanone	58	24930	39841	0.9968	0–100	0.02	6.0 a	3.1	101	2.2	
3-Octen-2-one	55	31667	14012	0.9980	0–100	0.02	1 a	3.3	93	2.0	
<b>Aldehyde</b>											
2-Methylpropanal	57	172	200	0.9872	0–100	0.90	18 c	4.3	102	11	
Butanal	43	4710	3421	0.9930	0–50	0.24	2.6 b	1.0	95	2.7	
3-Methylbutanal	44	3182	3425	0.9980	0–100	0.07	15 a	2.4	112	4.1	
2-Methylbutanal	41	5538	4103	0.9987	0–100	0.06	20 a	2.6	112	4.2	
2-Butenal	41	6393	2700	0.9995	0–100	0.10	23 a	4.9	126	16	
Pentanal	44	5352	13476	0.9958	0–100	1.03	10 c	0.7	128	3.1	
2-Methyl-2-butenal	84	13361	18808	0.9963	0–100	0.04	12 a	2.0	119	2.9	
2-Pentenal	83	10972	1341	0.9997	0–100	0.04	9.0 a	3.3	69	13	
Hexanal	41	6864	7373	0.9984	0–100	0.20	13 b	3.2	121	4.0	
2-Hexenal	41	6892	1113	0.9997	0–100	0.25	9.3 b	3.4	89	4.2	
Heptanal	43	2025	3809	0.9976	0–100	0.86	3.1 c	4.2	116	5.3	
2-Heptenal	41	6947	-5171	0.9983	0–100	0.11	17 b	5.4	81	7.0	
Octanal	41	5533	-589	0.9968	0–100	0.27	5.4 b	13	112	5.3	
2,4-Heptadienal	81	28487	-494	0.9994	0–100	0.04	10 a	7.3	91	9.0	
2-Octenal	55	6626	-16090	0.9852	0–100	0.12	22 b	13	75	9.1	
Nonanal	41	3877	-2753	0.9865	0–100	1.26	22 d	23	108	5.8	
2,4-Octadienal	81	24419	-19659	0.9956	0–100	0.05	13 a	14	92	5.9	
2-Nonenal	41	1671	-3695	0.9997	0.5–50	0.99	10 c	26	66	16	
Decanal	67	2089	-1445	0.9683	0–100	1.97	24 d	35	94	9.2	
2,4-Nonadienal	81	41974	-41813	0.9903	0–100	0.08	15 a	24	92	9.0	
2,4-Decadienal	81	8695	-14893	0.9781	0–100	0.12	11 b	37	92	12	
Benzaldehyde	105	34279	64892	0.9984	0–100	0.41	8.7 b	5.5	144	10	

Compound	Target <i>m/z</i>	Slope	Intercept	R <sup>2</sup>	Linear (ng mL <sup>-1</sup> )	LOD (ng mL <sup>-1</sup> )	RSD (%) <sup>*</sup>	Recovery (25 ng mL <sup>-1</sup> , n=3)		
								intraday (n=3)	Average (%)	RSD (%)
<b>Others</b>										
2,5-Dimethylfuran	96	19228	18172	0.9981	0-100	0.12	7.0 b	4.9	94	2.7
Toluene	91	103199	3000000	0.9980	0.5-100	5.64	4.4 d	3.7	95	3.2
2- <i>n</i> -Butylfuran	81	41227	46372	0.9973	0-100	0.01	6.6 a	2.9	101	2.4
2-Pentylfuran	81	29035	40791	0.9971	0-100	0.01	5.2 a	2.8	99	2.3
Styrene	104	35586	35963	0.9974	0-100	0.05	16 a	2.9	99	2.2

\*: LODに最も近い濃度における揮発性成分混合標準品のRSD値  
a: 0.1 ng mL<sup>-1</sup> b: 0.5 ng mL<sup>-1</sup> c: 1 ng mL<sup>-1</sup> d: 10 ng mL<sup>-1</sup>

Fig. 3より、DHS法を適用することで1 ng mL<sup>-1</sup>の揮発性成分混合標準品を幅広く検出できた。また、Table 2に示した各揮発性成分のTarget *m/z*のSIM分析により、HS-SPME法での検出感度が低かったアルコール類をアルデヒド類などと同等の検出感度で分析することが可能となった。また、LOD付近のRSD値は化合物に応じて異なる結果が得られ、LODが低くても再現性良く検出される揮発性成分と再現性が低い揮発性成分が存在することが示唆された。

各揮発性成分の日内変動のRSD値は2-Nonenal、Decadienal、2,4-Nonadienal、2,4-Decadienalを除き、すべて10%以下であり、添加回収実験では2-Methyl-1-propanolを除き、RSD値は10%以下となり良好な結果が得られた。また平均回収率も生体試料に含まれる夾雑物による影響は確認されなかった。

DHS法はHS-SPME法と異なり、気相を強制的にパージすることで揮発性成分を効率よく吸着剤へ移動させることが可能である。そのため、低分子の揮発性成分も捕集されるため、全体として検出感度が向上したと考えられた。本バリデーションの結果から、DHS-GC/MSを適用することで様々な揮発性成分を高感度に検出可能であることが明らかとなった。

### 3-3. DHS法による血しょう測定結果

最後に、*in vivo* サンプルとしてIL10ノックアウトマウス血しょうに含まれる揮発性成分をDHS-GC/MS分析を行った。IL10ノックアウトマウスは消化器炎症を引き起こす慢性炎症疾患であるクローン病モデルマウスである。サンプルとして、解剖時所見で腸炎発症程度がほとんどない、あるいは軽度なマウスと顕著に炎症が発症している血しょうを用いた。対照群として野生型マウス血しょうを用いた。得られた結果は内部標準物質で除算した相対面積値を求めた。

分析の結果、40化合物の揮発性成分を検出し、そのうち15化合物はサンプル間で有意な差が確認された (Table 3)。血しょうサンプルからアルコール類も検出され、また2,4-Dimethyl-1-hepteneは疾患モデルのみに検出された。加えて、Scan/SIM分析では、SIM分析に加えてScan分析も行うことが可能であるため、NISTライブラリーによる揮発性成分の定性解析も可能であった。以上より、DHS-GC/MSを適用することで、従来法では分析が困難だったアルコール類を含む血中揮発性成分を幅広く分析することが示された。

Table 3 IL10ノックアウトマウス血しょうに含まれる揮発性成分

Compound	Average relative area value ± SD (N=6)		
	Control	low inflammation, IL10	high inflammation, IL10
Butanal <sup>*</sup>	8.0 ± 2.9 × E-02	1.0 ± 0.4 × E-01	1.4 ± 0.8 × E-01
1-Propanol	3.6 ± 0.7 × E-01	3.5 ± 0.5 × E-01	4.0 ± 0.9 × E-01
2-Butanol <sup>*</sup>	3.2 ± 0.4 × E-01	4.6 ± 2.1 × E-01	4.4 ± 0.9 × E-01
2-Pentanone <sup>*</sup>	2.0 ± 1.2 × E-01	2.3 ± 0.6 × E-01	1.6 ± 0.5 × E-01
Heptane <sup>*</sup>	3.5 ± 0.4 × E-01	3.1 ± 0.5 × E-01	2.7 ± 0.3 × E-01
1-Butanol	1.3 ± 0.4 × E+00	1.5 ± 0.1 × E+00	1.5 ± 0.3 × E+00
Pentanal	3.5 ± 1.8 × E-01	2.8 ± 0.8 × E-01	2.9 ± 1.1 × E-01
1-Penten-3-ol	5.0 ± 3.4 × E-01	6.5 ± 1.8 × E-01	5.5 ± 2.9 × E-01
3-Methyl-1-butanol <sup>*</sup>	1.5 ± 0.6 × E-01	2.3 ± 0.6 × E-01	2.0 ± 0.4 × E-01
2-Pentenal	4.7 ± 3.4 × E-02	7.6 ± 2.7 × E-02	5.9 ± 1.8 × E-02
4-Methyl-2-pentanol	1.9 ± 2.7 × E-02	1.4 ± 3.2 × E-02	2.0 ± 2.1 × E-02
Toluene <sup>*</sup>	6.4 ± 0.7 × E+01	6.2 ± 0.5 × E+01	5.5 ± 0.5 × E+01
1-Pentanol	9.5 ± 4.4 × E-02	7.6 ± 1.1 × E-02	1.5 ± 0.8 × E-01



Compound	Average relative area value $\pm$ SD (N=6)		
	Control	low inflammation, IL10	high inflammation, IL10
Hexanal*	2.8 $\pm$ 6.2 $\times$ E-02	1.9 $\pm$ 1.2 $\times$ E-01	1.9 $\pm$ 1.3 $\times$ E-01
2-Penten-1-ol	0.5 $\pm$ 1.1 $\times$ E-02	1.2 $\pm$ 1.8 $\times$ E-01	1.4 $\pm$ 0.2 $\times$ E-01
2,4-Dimethyl-1-heptene*	0	4.0 $\pm$ 0.9 $\times$ E-02	3.7 $\pm$ 1.1 $\times$ E-01
1-Hexanol	1.2 $\pm$ 0.3 $\times$ E-01	1.1 $\pm$ 0.3 $\times$ E-01	1.4 $\pm$ 0.5 $\times$ E-01
2-n-Butylfuran*	0.6 $\pm$ 0.8 $\times$ E-02	0.6 $\pm$ 0.9 $\times$ E-02	1.6 $\pm$ 0.5 $\times$ E-02
Heptanal	0.5 $\pm$ 1.2 $\times$ E-02	1.3 $\pm$ 1.9 $\times$ E-02	2.0 $\pm$ 1.6 $\times$ E-02
Styrene	2.8 $\pm$ 1.2 $\times$ E-01	2.6 $\pm$ 1.1 $\times$ E-01	3.4 $\pm$ 1.6 $\times$ E-01
1-Octen-3-one	0.9 $\pm$ 0.6 $\times$ E-01	1.0 $\pm$ 0.6 $\times$ E-01	1.5 $\pm$ 0.7 $\times$ E-01
1-Heptanol	0.8 $\pm$ 0.7 $\times$ E-01	1.0 $\pm$ 0.5 $\times$ E-01	1.0 $\pm$ 0.7 $\times$ E-01
2-Pentylfuran	5.8 $\pm$ 1.1 $\times$ E-02	5.1 $\pm$ 0.7 $\times$ E-02	5.5 $\pm$ 1.5 $\times$ E-02
2-Octanone	1.5 $\pm$ 0.4 $\times$ E-01	1.4 $\pm$ 0.5 $\times$ E-01	1.4 $\pm$ 0.3 $\times$ E-01
Octanal	2.5 $\pm$ 1.0 $\times$ E-01	2.1 $\pm$ 1.0 $\times$ E-01	3.0 $\pm$ 1.3 $\times$ E-01
Benzaldehyde	1.4 $\pm$ 0.1 $\times$ E+01	1.3 $\pm$ 0.1 $\times$ E+01	1.4 $\pm$ 0.1 $\times$ E+01
2-Ethyl-1-hexanol	2.3 $\pm$ 0.6 $\times$ E+01	1.9 $\pm$ 0.5 $\times$ E+01	2.3 $\pm$ 0.7 $\times$ E+01
3-Octen-2-one	1.5 $\pm$ 2.0 $\times$ E-01	2.0 $\pm$ 1.1 $\times$ E-01	3.6 $\pm$ 2.8 $\times$ E-01
1-Octanol	2.2 $\pm$ 2.0 $\times$ E-01	1.8 $\pm$ 0.3 $\times$ E-01	1.9 $\pm$ 0.6 $\times$ E-01
2-Octen-1-ol	5.8 $\pm$ 1.5 $\times$ E-01	6.0 $\pm$ 2.1 $\times$ E-01	7.4 $\pm$ 2.6 $\times$ E-01
Nonanal	3.7 $\pm$ 0.8 $\times$ E-01	4.6 $\pm$ 3.0 $\times$ E-01	4.1 $\pm$ 0.9 $\times$ E-01
2,4-Octadienal*	1.6 $\pm$ 1.6 $\times$ E-02	2.4 $\pm$ 0.7 $\times$ E-02	3.0 $\pm$ 0.9 $\times$ E-02
Benzyl alcohol	1.2 $\pm$ 0.1 $\times$ E+03	1.1 $\pm$ 0.1 $\times$ E+03	1.3 $\pm$ 0.2 $\times$ E+03
Decanal	1.8 $\pm$ 0.7 $\times$ E-01	1.2 $\pm$ 0.3 $\times$ E-01	1.4 $\pm$ 0.9 $\times$ E-01
2,4-Nonadienal	9.6 $\pm$ 3.8 $\times$ E-02	8.3 $\pm$ 3.5 $\times$ E-02	1.1 $\pm$ 0.4 $\times$ E-01
Acetone_NIST*	2.1 $\pm$ 0.3 $\times$ E+02	1.7 $\pm$ 0.6 $\times$ E+02	1.5 $\pm$ 0.2 $\times$ E+02
2-Propano_NIST*	9.1 $\pm$ 1.1 $\times$ E+03	8.7 $\pm$ 0.9 $\times$ E+03	7.5 $\pm$ 0.8 $\times$ E+03
3-Methyl-2-butano_NIST*	2.0 $\pm$ 0.5 $\times$ E+00	2.3 $\pm$ 0.5 $\times$ E+00	1.5 $\pm$ 0.5 $\times$ E+00
2-Methyl-2-butano_NIST*	5.1 $\pm$ 0.8 $\times$ E+03	4.9 $\pm$ 1.0 $\times$ E+03	3.8 $\pm$ 0.6 $\times$ E+03
Unknown_NIST*	8.0 $\pm$ 1.1 $\times$ E+01	8.0 $\pm$ 0.9 $\times$ E+01	6.7 $\pm$ 1.5 $\times$ E+01

\* t検定により3群間のうち少なくとも1組で有意差 (p<0.05) を確認

## 4. まとめ

HS-20Trapを用いたDHS-GC/MSにより、血中微量揮発性成分分析が可能となった。揮発性成分混合標準品を用いてHS-SPME法と比較した結果、DHS法はアルコール類を含む幅広い揮発性成分を高感度に検出することが可能であることが示された。バリデーションの結果、ngオーダーですべての揮発性成分を検出することが可能であることが示された。また、マウス血しょう分析の結果、アルコール類を含む揮発性成分が検出され、微量な揮発性成分を測定することが可能であることを示した。以上の結果より、本システムはSPME法よりも揮発性成分を高感度に測定ができるため、揮発性成分プロファイリングによる揮発性成分バイオマーカー探索など臨床リサーチにおいて適用されることが期待される。

## 5. 謝辞

IL10ノックアウトマウス血しょうを提供していただきました神戸大学大学院医学研究科 吉田優准教授、西海信講師に厚く御礼申し上げます。

### 参考文献

Multi-Component Profiling of Trace Volatiles in Blood by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Dynamic Headspace Extraction  
S Kakuta, T Yamashita, S Nishiumi, M Yoshida, E Fukusaki, T Bamba  
*Mass Spectrometry* 2015 Vol.4 (1), A0034-A0034

## ヘッドスペースサンブラ

# HS-20シリーズ

性能と使いやすさを追求した革新的システム

揮発性成分分析への最適なソリューションとしてHS-20は開発されました。卓越した基本性能とユーザーフレンドリーなデザインは、研究部門から品質管理まであらゆる分析を強力にバックアップします。

### 優れた基本性能

- 高い再現性と低キャリアオーバーによって、いつでも正確な定量が可能
- 最高温度300℃のオープンにより、高沸点化合物の分析にも対応

### 使いやすいデザイン

- 使いやすさを追求したユーザーフレンドリーなデザインで、容易にサンプルをトレイにセット可能
- ニードルやサンプルループ、トラップなどの消耗部品を、装置上面から簡単に交換可能

### 優れた拡張性

- トラップモデルではヘッドスペースガスを濃縮することで部品、材料からの発生ガスなどの超微量成分の分析が可能
- バーコードリーダーオプションを搭載することでクロマトデータシステムと連携したサンプル管理が可能



詳細カタログ C146-0302

## トリプル四重極型 ガスクロマトグラフ質量分析計

# GCMS-TQ8040

日常の分析を飛躍させるSmart性能

多種多様な試料に含まれるさまざまな化学物質を微量まで測定する場合、GC-MS/MSによる測定が有効ですが、多くのパラメータ設定や適切なメソッドの作成が必要になります。GCMS-TQ8040では、煩雑なメソッドの作成作業を自動化し、高感度な多成分一斉分析を可能にしたことで、生産性を飛躍的に向上させます。

### Smart Productivity

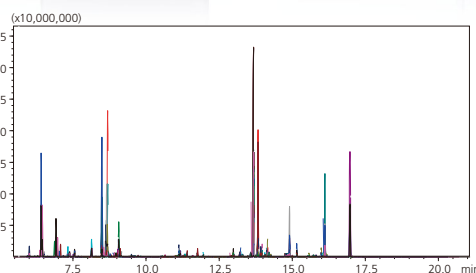
- 新しいファームウェア・プロトコルを搭載
- より多くの化合物を高感度・高精度に一斉分析
- Twin Line MSシステムによりカラム交換作業を軽減

### Smart Operation

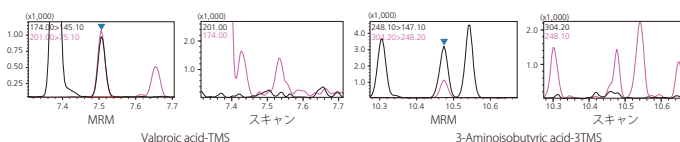
- Smart MRMによる最適なメソッドを自動作成
- 最適なトランジションを自動探索
- AART機能による保持時間自動修正

### Smart Performance

- 特許技術の高感度イオン源により、更なる高感度化を実現
- OFF-AXISイオン光学系によりノイズを低減
- シングルGC-MSとしても高感度分析可能



ヒト標準血漿中代謝成分のMRM分析で得られたトータルイオンカレントクロマトグラム (TIC)



ヒト標準血漿に含まれる代謝物のマスククロマトグラム比較

詳細カタログ C146-0315

# 株式会社 島津製作所

分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原著者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。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。

初版発行：2015年3月  
© Shimadzu Corporation, 2015