

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 (1)アミノ酸・有機酸の再現性、耐久性試験

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多検体測定を想定して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アミノ酸、有機酸の再現性と耐久性試験を行いました。

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
- ・ガードチップの使用

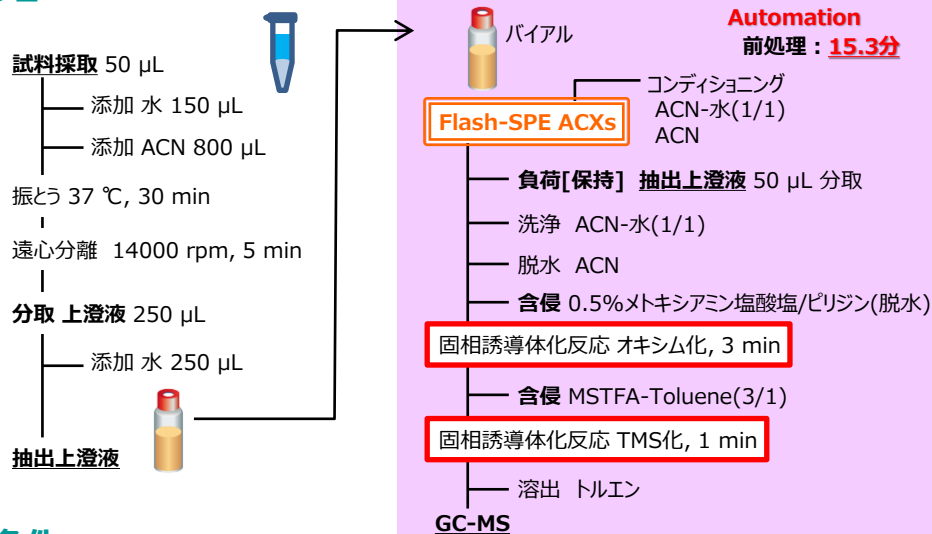
ガードチップ

- ・プレカラムの役割
- ・容易な交換
- ・カラムカット不要

【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



測定条件

GC Intuvo9000C

カラム	DB-5MS, 15m $\times$ 0.25mm I.D., 膜厚0.25 μ m
オープン温度	80 $^{\circ}$ C(1min)-20 $^{\circ}$ C/min-220 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C/min-310 $^{\circ}$ C(3min)(total14min)
注入口(MMI)温度	220 $^{\circ}$ C(0.5min)-70 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C
ライナー	ウルトライナートラライナー、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	オープントラック
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



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¹, 佐々野僚一², 佐久井徳広¹, 大塚剛史¹, 中村貞夫¹
¹アジレント・テクノロジー株式会社, ²株式会社アイスティサイエンス

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

株式会社アイスティサイエンス

TEL: 073-475-0033

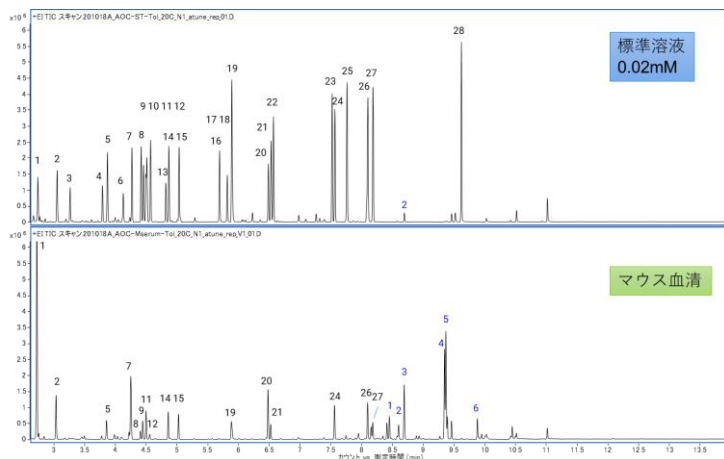
E-mail : as@aisti.co.jp

www.aisti.co.jp

結果と考察

(1)再現性試験

アミノ酸、有機酸の標準溶液とマウス血清を測定したTICクロマトグラムと再現性結果を示します。いずれもほとんどの成分で良好な結果が得られました。

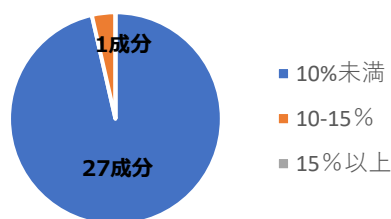


- | | |
|------------------------|--|
| 1. Lactic acid 2TMS | 18. Aspartic acid 3TMS |
| 2. Alanine 2TMS | 19. Pyroglutamic acid 2TMS |
| 3. Oxalic acid 2TMS | 20. Glutamic acid 3TMS |
| 4. Malonic acid 2TMS | 21. Phenylalanine 2TMS |
| 5. Valine 2TMS | 22. Tartaric acid 4TMS |
| 6. Benzoic acid TMS | 23. Shikimic acid 4TMS |
| 7. Leucine 2TMS | 24. Citric acid |
| 8. Isoleucine 2TMS | 25. Quinic acid |
| 9. Proline 2TMS | 26. Lysine 4TMS |
| 10. Maleic acid 2TMS | 27. Tyrosine 3TMS |
| 11. Glycine 3TMS | 28. Cysteine 3TMS |
| 12. Succinic acid 2TMS | 1. Gluconic acid 6TMS |
| 13. Fumaric acid 2TMS | 2. Palmitoleic acid TMS |
| 14. Serine 3TMS | 3. Palmitic acid TMS |
| 15. Threonine 3TMS | 4. 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, TMS |
| 16. Malic acid 2TMS | 5. 9-Octadecenoic acid (E), TMS |
| 17. Methionine 2TMS | 6. Arachidonic acid TMS |

アミノ酸、有機酸の標準溶液とマウス血清のTICクロマトグラム

標準溶液とマウス血清の再現性(RSD) 分布

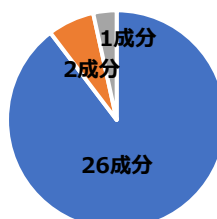
標準溶液0.02mM



標準溶液は28成分混合溶液で、16回の連続測定で良好な結果が得られました。

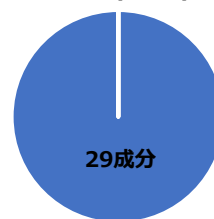
マウス血清

ロット1 (1回目)



100回の連続測定を、ロットと日程を変えて2回行いました。その間ライナーやガードチップの交換等は行っていない。

ロット2 (2回目)



(2)耐久性試験

マウス血清を100回測定したときの1回目(ロット1)のレスポンスの変化を示します。徐々にレスポンスが上がる、または徐々に低下するなどの傾向は見られませんでした。2回目も同様に安定した結果が得られました。この結果より実試料を200回以上測定してもライナーの交換に至らず、非常に堅牢なシステムであることが分かりました。

マウス血清 ロット1

