

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 2)アミノ酸・有機酸

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、有機酸の分析条件の最適化を行いました。

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

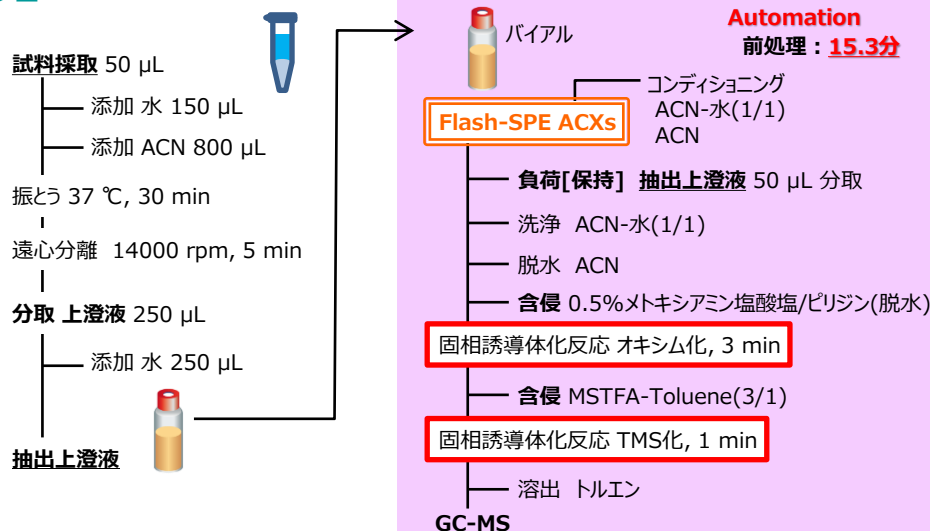
【Intuvo9000GC】

- ・高速分析可能
- ・取扱が容易

【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	ウルトラライトライナー、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	220 $^{\circ}$ C(0.5 min)-70 $^{\circ}$ C /min-290 $^{\circ}$ C
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



マウス血清

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

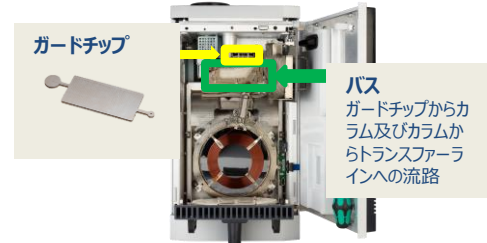
www.aisti.co.jp

GC条件の最適化

アミノ酸、有機酸類の計50成分についてガードチップ温度とバス温度の最適化を行いました。

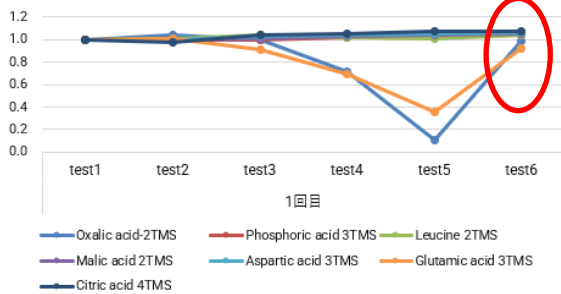
ガードチップ温度

Test1	オープントラック 105℃(1min)-20℃/min-220℃-30℃/min-310℃
Test2	GCオープンと同じ昇温 80℃ (1min)-20℃/min-220℃-30℃/min-310℃
Test3	220℃一定
Test4	250℃一定
Test5	280℃一定
Test6	注入口と同じ昇温 220℃ (0.5min)-70℃/min-290℃



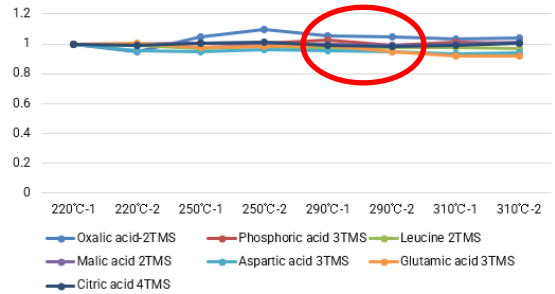
ガードチップ温度

Oxalic acid及びGlutamic acidでは、ガードチップ温度が一定とすると高温になるほど強度が減少 (test3, 4, 5-220、250、280℃) しました。一方 test1, 2, 6では昇温することで強度の現象は抑えられ、最終的に注入口と同条件 (test6) を最適としました。



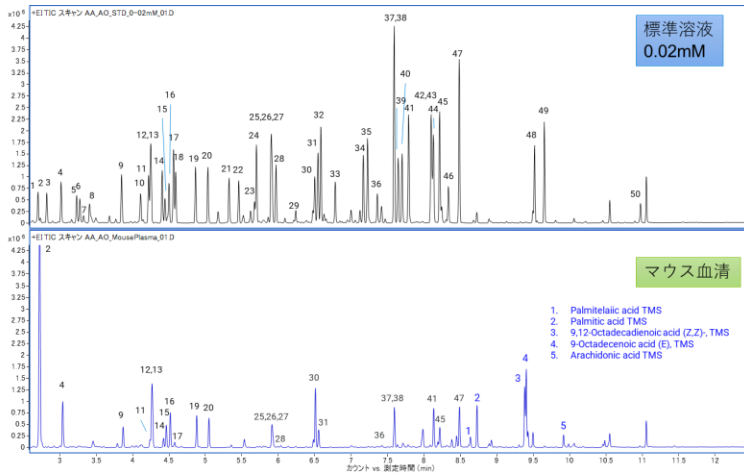
バス温度

ガードチップ温度の影響を受けたOxalic acid及びGlutamic acidについてもバス温度はどの温度でも大差ありませんでした。そこでトランスファーラインと同じ290℃を選択しました。



結果と考察

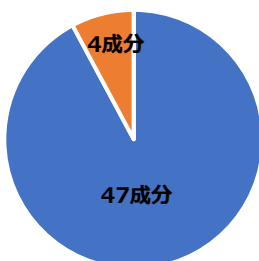
アミノ酸、有機酸の標準溶液とマウス血清を本システムで分析を行ったTICクロマトグラムとn=5の再現性を下記に示します。標準溶液、マウス血清ともにほとんどの成分でRSD10%未満の良好な再現性が得られ、高速分析の実用が可能と考えます。



1. Pyruvic acid TMS
2. Lactic acid 2TMS
3. Glycolic acid 2TMS
4. Alanine 2TMS
5. Oxalic acid 2TMS
6. Sarcosine 2TMS
7. 3-Hydroxypropionic acid 2TMS
8. 4-Hydroxypyridine TMS
9. Valine 2TMS
10. Benzoic acid TMS
11. Ethanolamine 3TMS
12. Phosphoric acid 3TMS
13. Leucine 2TMS
14. Isoleucine 2TMS
15. Proline 2TMS
16. Glycine 3TMS
17. Succinic acid 2TMS
18. Norleucine 2TMS
19. Serine 3TMS
20. Threonine 3TMS
21. β-Alanine 3TMS
22. Homoserine 3TMS
23. Nicotinamide TMS
24. Malic acid 2TMS
25. Methionine 2TMS
26. Aspartic acid 3TMS
27. Pyroglutamic acid 2TMS
28. γ-Aminobutyric acid (GABA) 3TMS
29. 2-Ketoglutaric acid 2TMS
30. Glutamic acid 3TMS
31. Phenylalanine 2TMS
32. Tartaric acid 4TMS
33. Asparagine 3TMS
34. Putrescine 4TMS
35. cis-Aconitic acid 3TMS
36. Glutamine 3TMS
37. Citric acid 4TMS
38. Ornithine 4TMS
39. Methioninesulfone 3TMS
40. Cadaverine 4TMS
41. Quinic acid 5TMS
42. Tyramine 3TMS
43. Histidine 3TMS
44. Lysine 4TMS
45. Tyrosine 3TMS
46. Indole-3-acetic acid 2TMS
47. Gluconic acid 6TMS
48. Spermidine 5TMS
49. Cysteine 4TMS
50. Spermine 6TMS

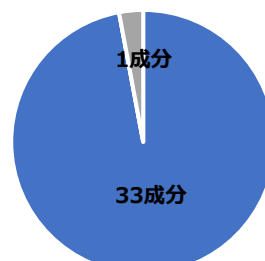
標準溶液とマウス血清の再現性(RSD) 分布

標準溶液0.02mM



- 10% 未満
- 10-15%
- 15% 以上

マウス血清



- 10% 未満
- 10-15%
- 15% 以上