

オンライン固相誘導体化-GC-MSシステムによる 唾液中メタボローム分析

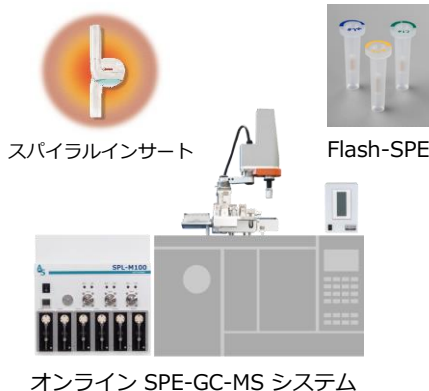


SPL-M100
for SPE-GC system

はじめに

固相誘導体化法（Solid-phase derivatization: SPD）は、分析対象成分を固相に保持し溶媒通液によって脱水処理を行うことで時間のかかる遠心乾固や凍結乾燥をすることなく誘導体化反応を行う手法です。

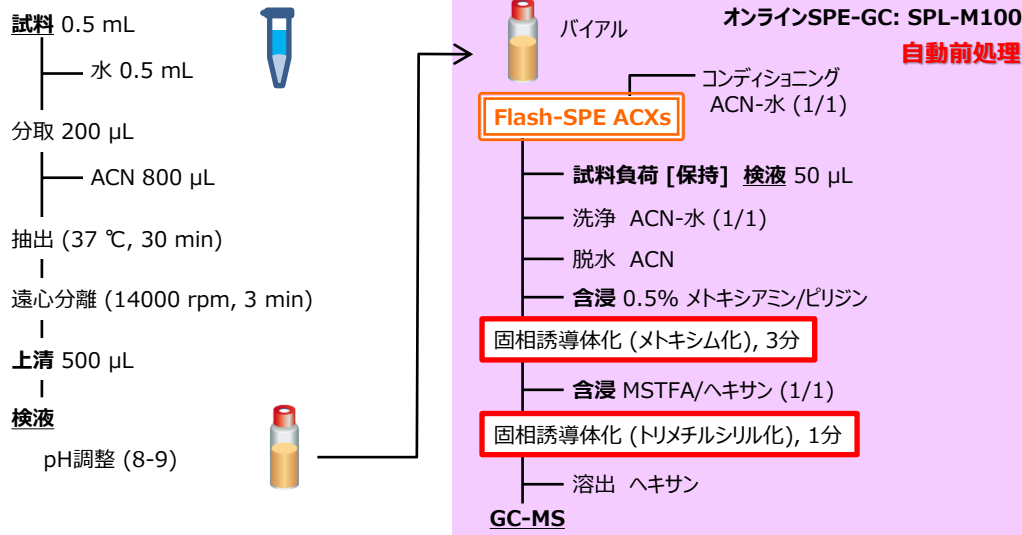
本アプリケーションでは唾液中メタボローム分析における前処理方法および分析条件を紹介します。



Sample

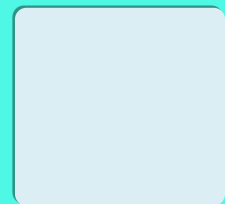


前処理フロー



分析条件

SPE-GCインターフェース 固相カートリッジ	SPL-M100 (AiSTI SCIENCE) Flash-SPE
PTV注入口 インサート 注入口温度	LVI-S250 (AiSTI SCIENCE) スパイラルインサート 220 $^{\circ}$ C(0.5 min)-50 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C(23 min)
ガスクロマトグラフ 注入条件 制御モード プレカラム 分析カラム オープン温度 トランスファーライン	スプリット(1:50) 流量一定 (コンスタントフロー) , 1.0 mL/min 0.25 mm i.d. x 0.5 m Vf-5ms, 0.25 mm i.d. x 30 m, df=0.25 μ m 100$^{\circ}$C (2 min)-10 $^{\circ}$ C/min-320 $^{\circ}$ C(2min) 290 $^{\circ}$ C
質量分析計 データ取得モード データ取得時間	Scan (m/z 70-600) 3.0-26 min



AiSTI SCIENCE

Product

オンライン SPE-GC
SPL-M100
固相カートリッジ
Flash-SPE
大量注入口装置
LVI-S250



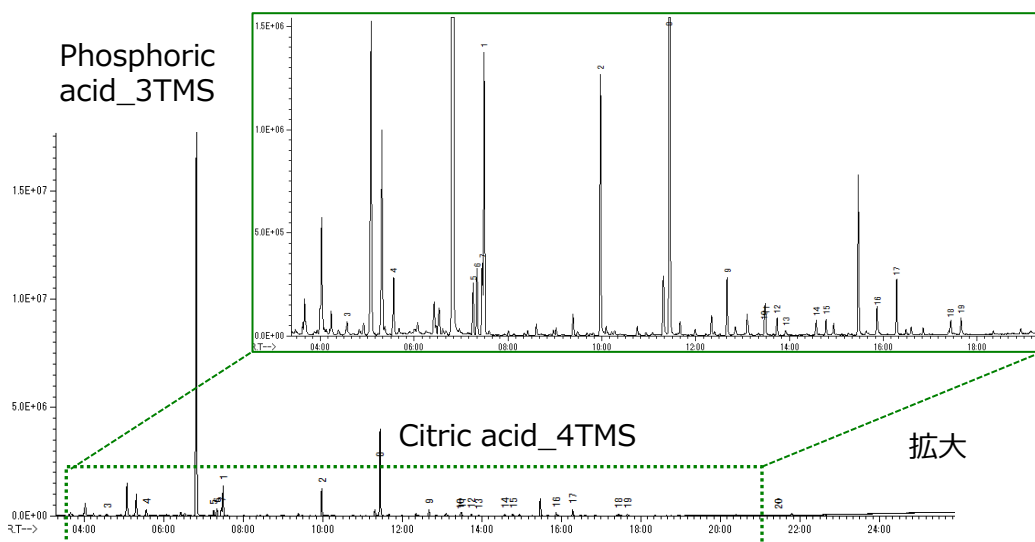
AiSTI SCIENCE CO.,Ltd.

Tel : +81-73-475-0033

E-mail : as@aisti.co.jp

HP : www.aisti.co.jp

結果



図：トータルイオンクロマトグラム

表 1：添加回収試験結果 (n=5)

サンプル	No.	Norleucine_2TMS	Adipic acid_2TMS	サンプル	No.	Norleucine_2TMS	Adipic acid_2TMS
内標	S1	2,448,000	111,000	唾液	唾液-K1	2,310,000	126,700
バイアル中20 μ M	S2	2,374,000	110,200	10D	唾液-K2	2,025,000	115,300
	S3	2,313,000	102,700		唾液-K3	2,134,000	117,700
	S4	2,383,000	110,300	内標	唾液-K4	2,063,000	109,300
	S5	2,349,000	103,400	除タンパク後添加	唾液-K5	2,197,000	120,900
	<i>Ave.</i>	<i>2,373,400</i>	<i>107,520</i>	バイアル中20 μ M	<i>Ave.</i>	<i>2,145,800</i>	<i>117,980</i>
RSD, %	2.1	3.8		RSD, %	5.3	5.5	
			(K/Sx100)	REC, %	90	110	
			唾液	唾液_A1	1,978,000	121,700	
			10D	唾液_A2	1,961,000	113,900	
			内標	唾液_A3	2,080,000	122,200	
			唾液に添加	唾液_A4	1,968,000	111,400	
			試料中200 μ M	唾液_A5	2,054,000	122,300	
			(バイアル中20 μ M)	<i>Ave.</i>	<i>2,008,200</i>	<i>118,300</i>	
				RSD, %	2.7	4.4	
			(A/Sx100)	回収率, %	85	110	
			(A/Kx100)	回収率, %	94	100	

表 2：再現性試験結果 (RSD%, n=5)

No.	化合物名	唾液-1	唾液-2	唾液-3	唾液-4	唾液-5	<i>Ave.</i>	RSD, %
1	Alanine_2TMS	124,100	108,500	112,100	113,300	114,200	<i>114,440</i>	5.1
2	Urea_3TMS	59,950	53,270	65,700	54,050	70,000	<i>60,594</i>	12.0
3	Proline_2TMS	481,000	418,600	437,000	432,700	454,600	<i>444,780</i>	5.4
4	Glycine_3TMS	354,300	319,700	323,500	322,100	340,900	<i>332,100</i>	4.5
5	Succinic acid_2TMS	49,020	46,330	45,910	44,520	46,790	<i>46,514</i>	3.5
6	5-Aminovaleric acid_3TMS	4,982,000	4,212,000	4,519,000	4,623,000	4,786,000	<i>4,624,400</i>	6.3
7	Putrescine_4TMS	457,300	404,100	422,900	413,200	438,100	<i>427,120</i>	4.9
8	Citric acid_4TMS	9,392	8,965	8,049	8,148	7,767	<i>8,464</i>	8.1
9	Ornithine_4TMS	74,060	62,220	63,890	63,740	68,900	<i>66,562</i>	7.3
10	Cadaverine_4TMS	131,400	113,400	119,100	116,700	124,200	<i>120,960</i>	5.8
11	Myristic acid_TMS	15,190	14,160	14,430	12,530	14,170	<i>14,096</i>	6.9
12	Lysine_4TMS	15,050	12,850	13,010	13,890	14,080	<i>13,776</i>	6.5
13	Tyrosine_3TMS	105,300	90,520	96,260	91,420	96,840	<i>96,068</i>	6.1
14	Palmitic acid_TMS	73,910	72,730	74,010	63,600	75,890	<i>72,028</i>	6.7
15	Uritic acid_4MS	122,400	105,400	111,000	111,300	108,700	<i>111,760</i>	5.7
16	Oleic Acid_TMS	17,690	18,570	16,440	15,330	16,250	<i>16,856</i>	7.6
17	Stearic acid_TMS	40,930	39,760	38,730	34,410	39,650	<i>38,696</i>	6.5