

GC/MS によるメタボロミクス分析における JetClean セルフクリーニングイオン源の有効性



<要旨>

GC/MS におけるメタボロミクス分析は、脂質及び、アミノ酸、有機酸類といった、多様な化合物を網羅的に検出できるため、広く使用されている手法です。しかしながら、前処理として誘導体化を必要とし、また、測定対象物が非常に高濃度の場合も多く、一般的な GC/MS 分析に比べ、システムの汚れが顕著である場合が多いのが現実です。今回は、イオン源の汚れを最大限に抑制する、JetClean セルフクリーニングイオン源を使用することで、データの安定性、メンテナンス頻度の低減について検討を行いましたので、紹介いたします。

Key Words: JetClean, 5977B, メタボロミクス

* * * * *

1. はじめに

JetClean セルフクリーニングイオン源（以下 JetClean）はアジレント・テクノロジーのシングル四重極、トリプル四重極 GC/MS に搭載可能な技術です。極微量の水素ガスをクリーニングガスとして、イオン源に導入することにより、イオン源の汚れを抑制します。最近では、残留農薬の分析⁽¹⁾⁽²⁾や、フタル酸エステル類の分析⁽³⁾において、イオン源の汚れを防ぐとともに、直線性、レスポンスの安定性の改善、マトリックス効果の抑制といった様々な効果が得られることが分かっています。

GC/MS によるメタボロミクス分析では、誘導体化（主に TMS 化）が必要となるため、システムに常に未反応の反応性の高い誘導体化試薬が導入されます。また、対象となる誘導体化物をはじめ種々の化合物がシステムに入ってきます。そのため、注入口やカラム、イオン源の汚れにより、安定したレスポンスが得られない場合があります。今回は JetClean を使用することで、最もダウンタイムが大きいイオン源のメンテナンス頻度を低減し、レスポンスを安定させる効果が得られるかについて検討しました。

また、イオン源に微量の水素を流す事によって生じると懸念される検出感度の減少、及びマススペクトルパターンの変化の有無やその影響度についても確認を行いました。

2. 条件

サンプル調製

市販の焼酎 20uL をマイクロチューブに添加し、遠心濃縮器により、減圧乾固しました。その後、10uL の内部標準物質（ミスチン酸-d27, 75mg/L）、及び、20uL のメキシアミン塩酸塩(20mg/mL, ピリジン溶液)を添

加し、30°C で 90 分反応させました。その後、70uL の MSTFA+1%TMCS を加え、37°C で 30 分反応させ、サンプルとしました。

分析条件

注入量: 1uL
注入口温度: 250°C
ライナー: Ultra inert Split liner (P/N: 5190-2295)
注入: スプリット 10:1
キャリアガス: ヘリウム
カラム: DB-5ms (30m, 0.25mm, 0.25um) (P/N: 122-5532)
オープン: 60°C(1min)-20°C/min-320°C(10min)
流量: 1mL/min
インターフェース温度: 300°C
イオン源: エクストラクタイオン源
イオン源: 300°C
四重極温度: 150°C
エクストラクタレンズ: 6mm
チューニング: Atune
MS モード: Scan (m/z : 60-600)
JetClean: 測定とクリーニングモード

3. 分析結果

レスポンスの安定性、イオン源の汚れ

図 1 には焼酎のクロマトグラム(TICC)を示します。この中で、グリセロール-3TMS、ミスチン酸-d27-TMS、パルミチン酸-TMS について、再現性を確認しました。JetClean が無い場合、有る場合それぞれについて、レスポンスの挙動を比較しました。



図2にはJetClean 有りの場合と、無しの場合、それぞれにおける各化合物 100 回の連続分析結果を示しました。1 回目の注入のレスポンスを 1 としてそれぞれのレスポンスを比率で表示しています。

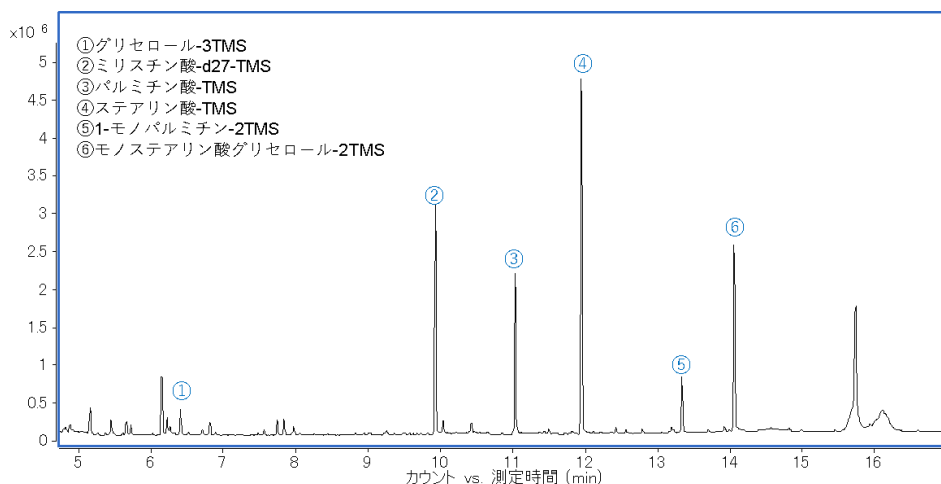


図 1. 焼酎サンプルのクロマトグラム(TICC)

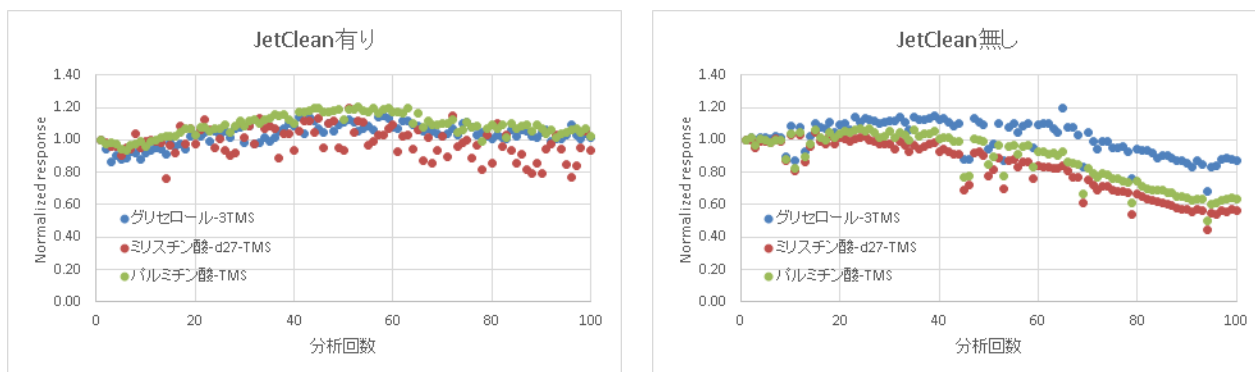


図 2. 焼酎サンプルを 100 回連続分析した際の、各化合物のレスポンスの挙動（左図: JetClean 有り、右図: JetClean 無し）

JetClean が有り、無しにかかわらず、50 回目以降の分析結果ではばらつきが大きくなる傾向が見られました。これは注入口のライナーやカラムの先端の汚れの影響と考えられます。一方で、JetClean ありの場合には、100 回の分析中に、顕著なレスポンスの減少は見られませんが、JetClean なしの場合には特に 70 回目以降、顕著なレスポンスの減少が確認されました。この結果から、メタボロミクス分析においても JetClean はレスポンスの安定性を保つために非常に有効であると考えられました。

注入口ライナー等を交換した後、異なるサンプルなども含めて、200 回以上の分析を行い、イオン源の汚れについて目視で確認を行った結果を図 3 に示しました。

JetClean 有りの条件においては、約 350 回の分析を行い、確認をしました。(図 4)



図 3. JetClean 無しの場合のイオン源レンズ



図 4. JetClean 有りの場合のイオン源の汚れ (約 350 回分析後)

JetClean 無しの場合には、レンズに黒い焦げ付きが確認されました。一方で JetClean 有りの場合には、レンズには汚れは観測されず、フィラメント、イオン源ボディにも汚れは目視で確認されませんでした。本結果より、JetClean がメタボロミクス分析においても十分にイオン源メンテナンスの頻度を低減させる効果があることがデータ安定性だけでなく、目視でも確認されました。

感度、マススペクトルについて

図 5 には JetClean 無しの場合と、有りの場合で、同一サンプル(アミノ酸、有機酸混合標準液)を分析したクロマトグラム(TICC)を示しました。一般的に JetClean により水素が導入されると、感度が低減しますが、今回も同様の傾向が確認されました。しかしながら、全体として感度の低減は比較的少なく、最大で半分程度であることが確認されました。

また、図 6 にはグリシン-3TMS、リジン-4TMS、リンゴ酸-3TMS の JetClean の有無によるマススペクトルを示しました。また、他の成分についても比較を行ないました。その結果、どの成分においてもほとんど同一のマススペクトルが得られました。

過去の JetClean を使用した GC/MS の測定においては、一部の農薬等でスペクトルパターンの変化が確認されていますが、メタボロミクス分析においては、水酸基、アミノ基といった活性基部分が誘導体化されて安定化しているため、変化が生じにくかったものと推測されます。

4. まとめ

メタボロミクス分析において、JetClean がイオン源の汚れを抑制し、レスポンスの安定性を向上させることが確認されました。この効果により、イオン源のメンテナンス頻度を大幅に削減する事が可能です。また、感度減少、スペクトルパターンの変動についてもメタボロミクス分析においてはほとんど問題のないことが確認されました。このため、JetClean がメタボロミクス分析において、非常に有効な機能であることが確認されました。

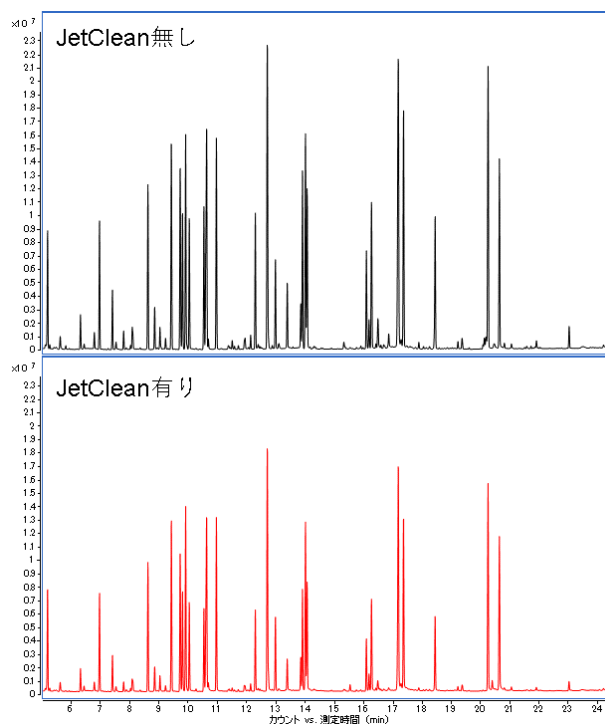


図 5. アミノ酸、有機酸混合標準液のクロマトグラム(TICC)の比較。(上図: JetClean 無し、下図: JetClean 有り)

【参考文献】

- (1) JetClean セルフクリーニングイオン源を用いた、マトリックス効果抑制の検討, 第 39 回農薬残留分析研究会
- (2) JetClean セルフクリーニングイオン源搭載 GC-MS/MS を用いた食品中残留農薬分析におけるマトリックス効果の低減, 第 113 回食品衛生学会
- (3) アジレント・テクノロジーアプリケーションノート: Agilent GC/MS フタル酸エステルスクリーナー (GC-MS_201609NK-002)

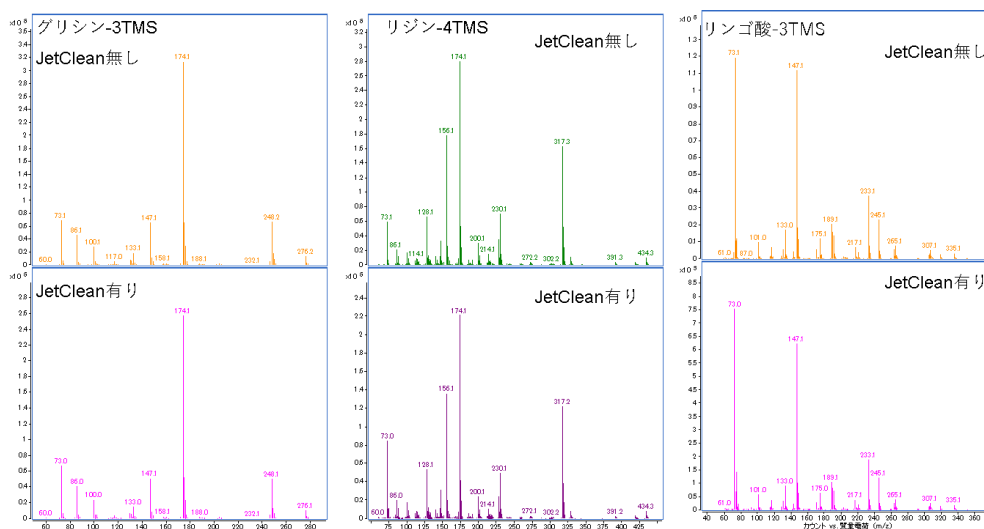


図 6. 各化合物のマススペクトル(上図: JetClean 無し、下図: JetClean 有り)

【GC-MS-201712AZ-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更する事があります。

アジレント・テクノロジー株式会社
192-8510 東京都八王子高倉町 9-1
www.agilent.com/chem:jp

