

Application News

No. M273

气相色谱质谱分析

GC-MS 法测定生物样品中的短链脂肪酸

短链脂肪酸中的乙酸等化合物自古以来便与我们的生活密切相关，最近它们作为肠道菌群中的有用成分而备受瞩目，但同时也作为难以进行定量分析的化合物为人所知。通常，LC-MS 无法准确定量低浓度的短链脂肪酸，因为 LC-MS 会使用甲酸和乙酸做为流动相。使用 GC-MS 分析时，需要进行羟基的衍生化，但许多衍生化工艺都必须除去样品中存在的水份，多数短链脂肪酸都会在此时挥发，这是一个亟待解决的问题。

本文采用在水或甲醇中也能够诱发羧酸和胺发生缩合反应的缩合剂 4-(4,6-Dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium Chloride (DMTMM)，用胺对短链脂肪酸进行了衍生化，并通过 GC-MS 进行了分析。另外，还对使用该衍生分析系统的定量性能进行了评估。

T. Sakai

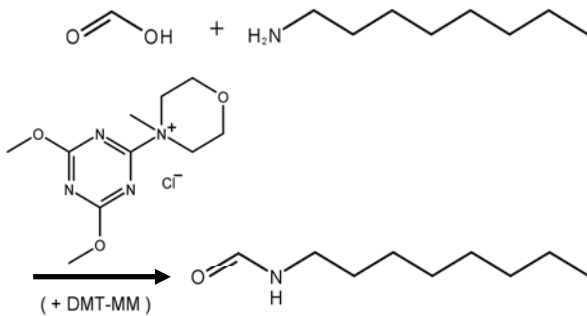


图 1 甲酸和正辛胺的缩合反应

样品

对人体标准血浆 (Kojin 生物; 正常人体血浆池 EDTA-2Na (12271450)) 进行前处理, 并按照标准添加法测量了各脂肪酸的浓度。

样本 50 μ L
 ↓
 添加短链脂肪酸水溶液 10 μ L, 使其最终浓度处于 0 - 100 μ mol/L 的范围内
 ↓
 添加乙酸-d4 水溶液, 使其最终浓度变为 10 μ mol/L
 ↓
 添加甲醇 250 μ L
 (脱蛋白处理)
 ↓
 高速振荡 30 秒, 之后以 25 $^{\circ}$ C、16000 G 的条件离心 3 分钟
 ↓
 回收 180 μ L 的上清液
 ↓
 添加 DMT-MM 和正辛胺
 浓度均为 100 mmol/L 的甲醇溶液 20 μ L
 ↓
 于常温下静置 9 小时, 然后供于分析

图 2 人体标准血浆的前处理

分析条件

分析条件如表 1 所示。

表 1 分析条件

气相	
色谱柱	: BPX-5(30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m)
载气	: He
进样口温度	: 250 $^{\circ}$ C
载气控制模式	: 恒线速度 (39.0 cm/sec)
进样模式	: Split (30:1)
色谱柱升温程序	: 60 $^{\circ}$ C (2 min)_15 $^{\circ}$ C/min_330 $^{\circ}$ C (5 min)
质谱	
离子源温度	: 200 $^{\circ}$ C
接口温度	: 280 $^{\circ}$ C
采集方式	: MRM
循环时间	: 0.3 sec

结果

分析结果显示, 各脂肪酸衍生物的校正曲线均呈现出良好的线性, 并成功地测量了人体标准血浆中的各短链脂肪酸的浓度(表2)。

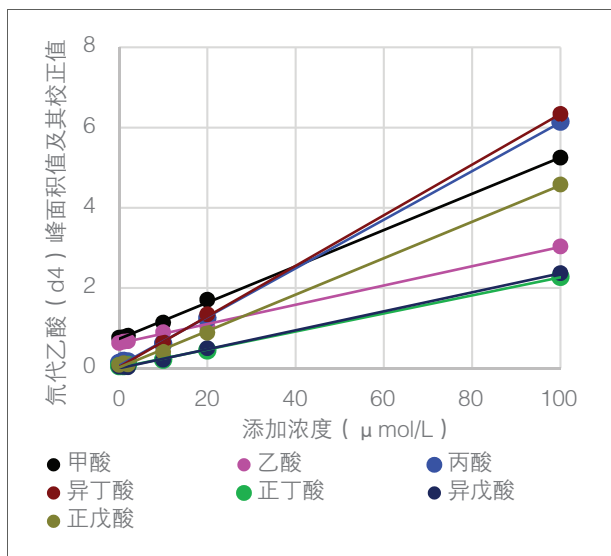


图3 各脂肪酸的校正曲线

表2 校正曲线的线性相关系数和人体标准血浆中的浓度

化合物名称	校正曲线的线性 (R ² 值)	血浆中浓度 (μmol/L)
甲酸	0.9994	115.64
乙酸	0.9990	184.36
丙酸	0.9996	8.02
异丁酸	0.9997	3.97
正丁酸	0.9991	5.89
异戊酸	0.9992	0.82
正戊酸	0.9991	3.25

总结

本文使用岛津 GC-MS 建立了生物样品中七种短链脂肪酸的定量分析方法, 分别是甲酸、乙酸、丙酸、异丁酸、正丁酸、异戊酸、正戊酸。具体操作步骤如下:

- 使用 DMT-MM 进行胺衍生生化
- 采用乙酸 d4 作为内标对面积值进行校正

参考文献

针对本文的内容, 我们基于东丽研究中心 The TRC News No. 115(May 2012) 中记载的方法, 于本公司内部实施了实验和验证。

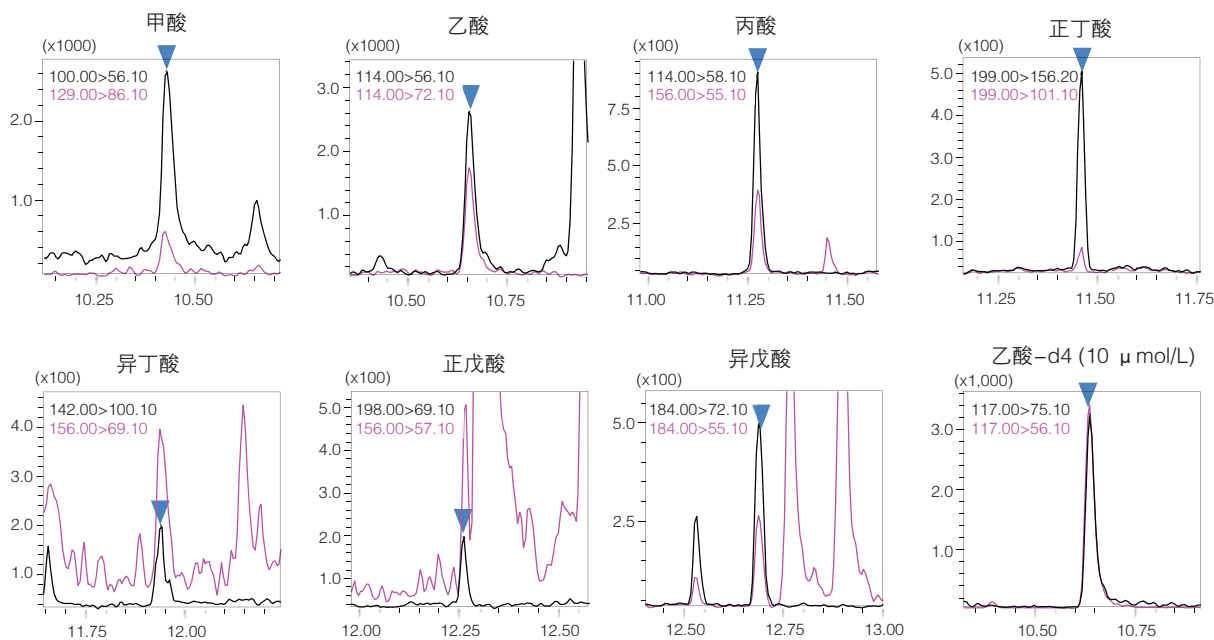


图4 样品加标浓度为 1 μmol/L 的 MRM 色谱图

注) 本文中记载的产品尚未作为医疗器械得到日本医药品医疗器械法的批准和认证, 不能用于医学检查、治疗或其它相关活动



岛津企业管理(中国)有限公司
岛津(香港)有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2017年3月