

## 使用 GCMS™ 和 GC-SCD 分析肠道微生物产生挥发性气体的新方法

肠道菌群可以产生各种挥发性物质，这些物质与健康 and 疾病相关。此外，可以利用挥发性物质研究的成果，开展探索生物标志物等的科研工作。

本篇应用分析了无菌小鼠和正常菌群定殖小鼠的粪便样品中产生的气体，并进行了比较研究。使用 GCMS 用于全面分析产生的气体，GC-SCD 用于分析含硫气体。

Y. Takemori

### ■ 样品和分析条件

将无菌和正常菌群定殖小鼠的新鲜粪便直接装入顶空瓶中，喷入厌氧气体后密封后培养 24 小时。使用顶空进样器，通过 GCMS、GC-SCD 对产生的气体进行分析。

本实验的 GCMS 仪器配置及分析条件如表 1 所示，GC-SCD 仪器配置及分析条件如表 2 所示。

表 1 GCMS 仪器配置及分析条件

型号	: HS-20 Trap / GCMS-QP™ 2020 NX
HS-20 Trap	
模式	: 捕集阱 (捕集阱管: Tenax® GR)
多次进样次数	: 5 次
柱温箱温度	: 37 °C
样品流路温度	: 80 °C
传输线温度	: 90 °C
阱冷却温度	: 10 °C
阱加热温度	: 280 °C
阱待机温度	: 25 °C
样品瓶压力	: 60 kPa
干吹扫压力	: 60 kPa
样品瓶保温时间	: 180 min
样品瓶加压时间	: 1 min
样品瓶加压	: 0.1 min
平衡时间	
上样时间	: 1 min
上样加压时间	: 0.1 min
干吹扫时间	: 10 min
进样时间	: 1 min
洗针时间	: 5 min
GC	
进样模式	: 分流
分流比	: 3:1
载气	: He
载气控制方式	: 恒线速度 (25.5 cm/s)
色谱柱	: DB-WAXetr (60 m×0.25 mm×0.25 μm)
柱温程序	: 40 °C (5 min) -3 °C/min -240 °C (15 min)
MS	
离子源温度	: 200 °C
接口温度	: 200 °C
采集方式	: EI
测试模式	: 扫描 (m/z 10 ~ 350)
间隔	: 0.3 s

表 2 GC-SCD 仪器配置及分析条件

型号	: HS-20 / Nexis™ GC-2030 / SCD-2030
HS-20	
模式	: 环式
柱温箱温度	: 37 °C
样品流路温度	: 80 °C
传输线温度	: 90 °C
样品瓶压力	: 60 kPa
样品瓶保温时间	: 180 min
样品瓶加压时间	: 1 min
样品瓶加压	: 0.1 min
平衡时间	
上样时间	: 1 min
上样加压时间	: 0.1 min
进样时间	: 1 min
洗针时间	: 5 min
GC	
进样模式	: 分流
分流比	: 3:1
载气	: He
载气控制方式	: 恒线速度 (25.5cm/s)
色谱柱	: DB-WAXetr (60 m×0.25 mm×0.25 μm)
柱温程序	: 40 °C (5 min) -3 °C/min -240 °C (15 min)
检测器	: 硫化学发光检测器 (SCD)
接口温度	: 200 °C
电炉温度	: 850 °C
检测器气体	: H <sub>2</sub> 100.0 mL/min N <sub>2</sub> 10.0 mL/min O <sub>2</sub> 12.0 mL/min O <sub>2</sub> 25.0 mL/min



HS-20 Trap / GCMS-QP™ 2020 NX (全面分析)



HS-20 / Nexis™ GC-2030 / SCD-2030 (硫分析)

## ■ 分析结果 ①（无菌小鼠与正常菌群定殖小鼠的比较）

图 1 所示为 GCMS 的总离子流图（TIC），图 2 所示为 GC-SCD 的色谱图。

结果显示，在全面分析挥发性物质的 TIC（图 1）、分析含硫挥发性物质的色谱图（图 2）中，采自菌群定殖小鼠样品的挥发性物质检出数和产量（峰面积大）均多于采自无菌小鼠的样品。上述结果表明，肠道细菌与许多挥发性物质的产生密切相关。

### GCMS（挥发性物质的全面分析）

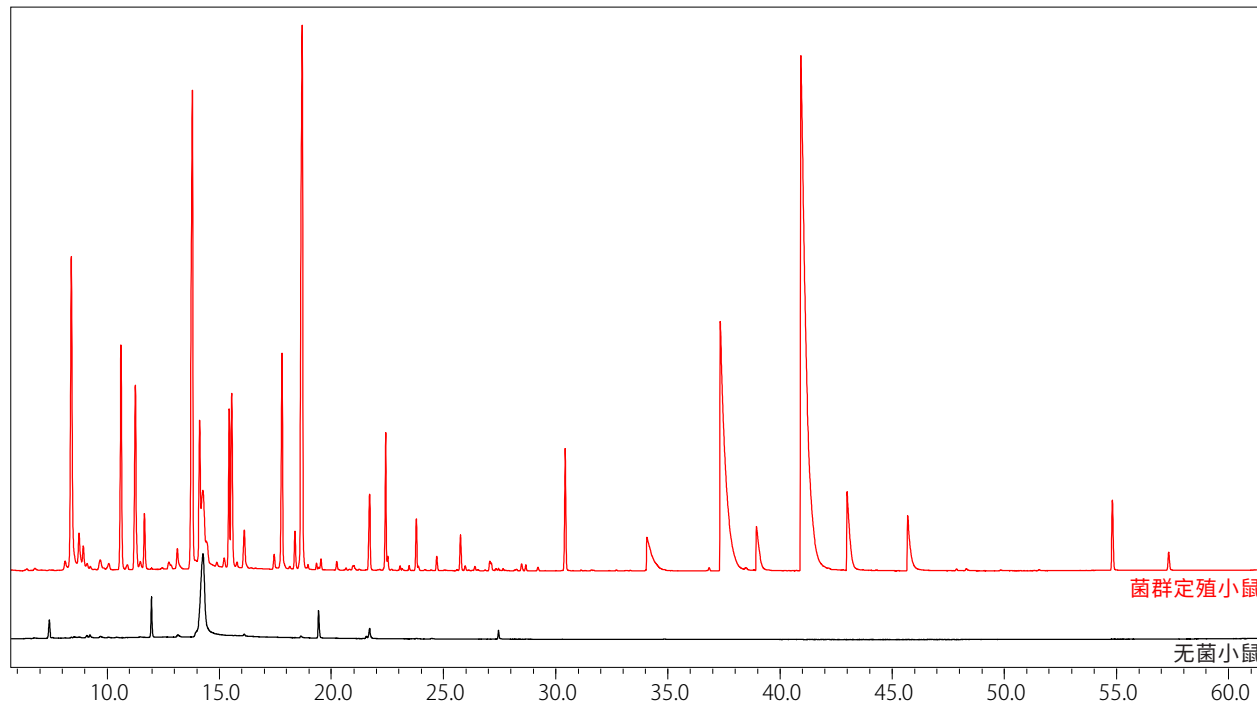


图 1 GCMS 的总离子流图

### GC-SCD（含硫挥发性物质的选择性分析）

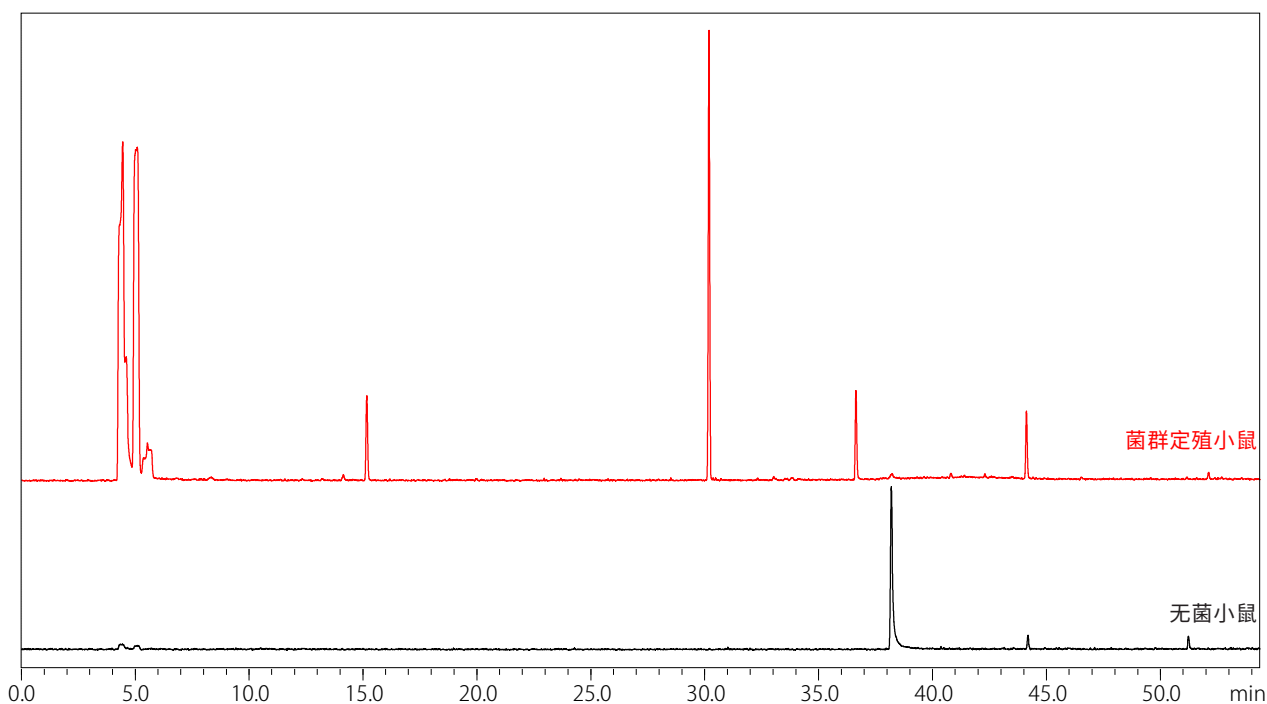


图 2 GC-SCD 的色谱图

SCD 和 GCMS 的色谱图如图 3 所示。在数据分析中，通过 GC-SCD 的色谱图成功检测并鉴别出 H<sub>2</sub>S，该物质在 GCMS 的 TIC 中会因为和其他化合物重叠而被忽略。此外，使用 GC-SCD 还可以检测、鉴别出在 GCMS 中因为峰强度低而有可能漏检的如下含硫化合物：2-甲硫基乙醇及 3-甲硫基-1-丙醇。

通过 GC-SCD 与 GCMS 的数据结合，可以轻松鉴别含硫化合物。

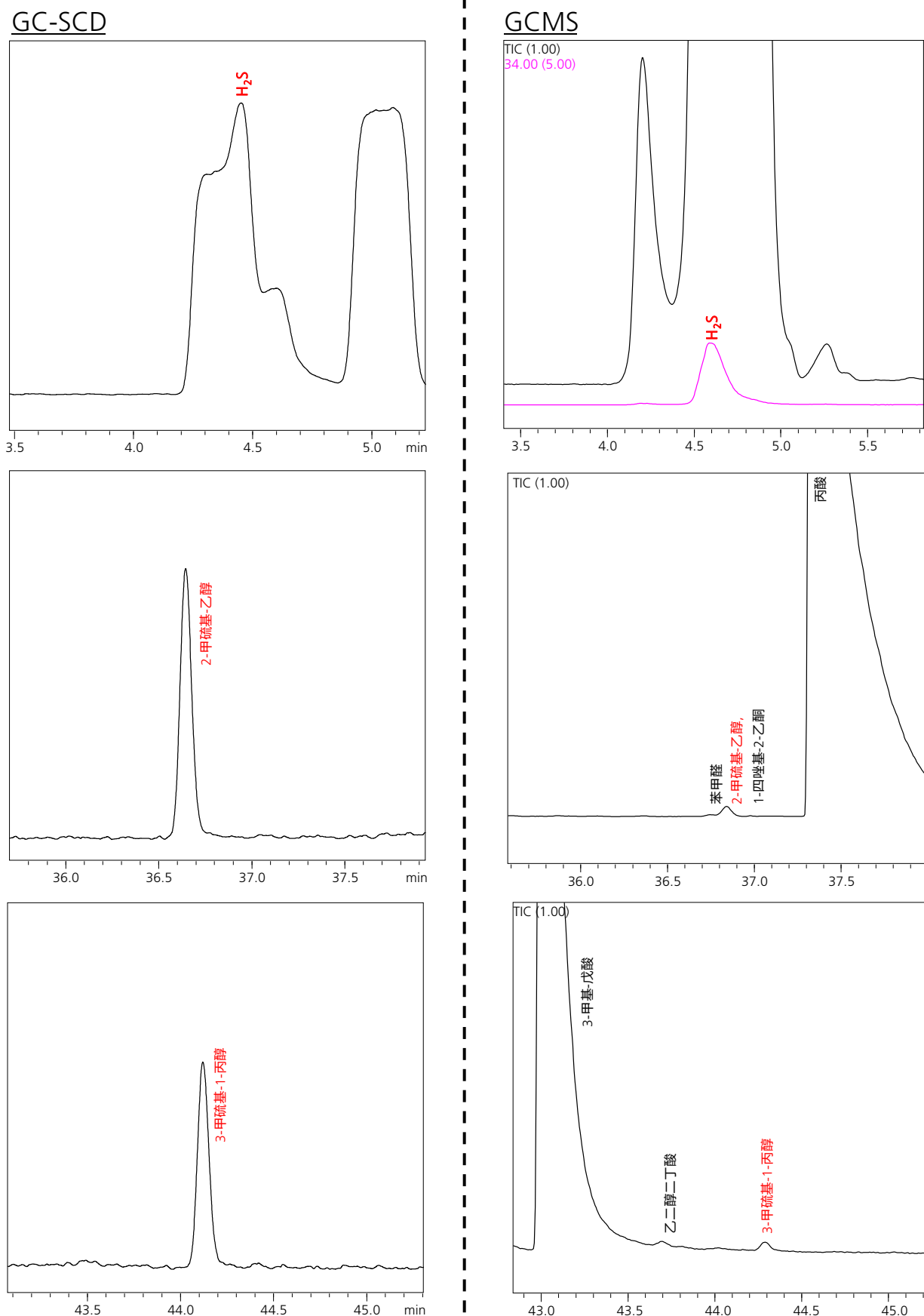


图 3 SCD 及 GCMS 的色谱图 (红字是含硫化合物)

## ■ 分析结果 ② (正常菌群定殖小鼠中的个体差异比较)

针对 6 只菌群定殖小鼠, 平行处理两份样品, 通过 GCMS 分析得到的总离子流图如图 4 所示。

然后, 使用合计 121 种化合物数据, 通过多变量分析软件: SIMCA® 15 (Infocom 公司) 进行了主成分分析。该结果的得分图如图 5 所示。在得分图上, 来自同一个体的样品形成了最小集群, 同时可获得个体之间的分离趋势。根据上述结果, 验证本方法可以测定肠道细菌产生挥发性物质的个体差异, 通过使用疾病模型小鼠, 有望应用于新生物标志物的探索。

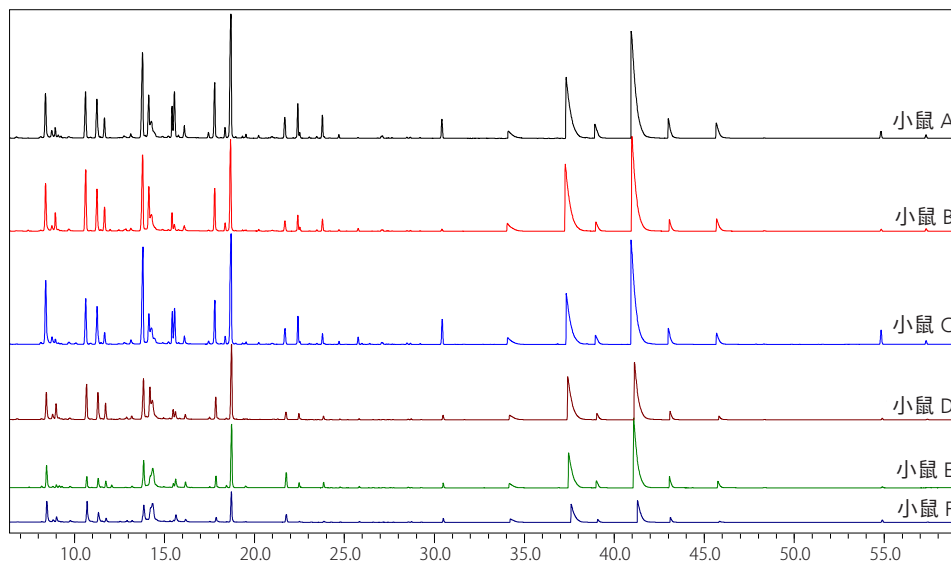


图 4 菌群定殖小鼠样品的总离子流图

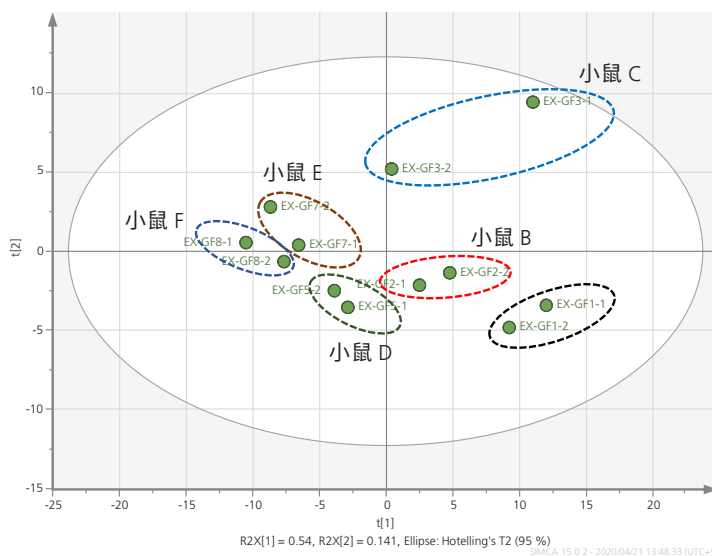


图 5 菌群定殖小鼠分析结果的多变量分析结果 (得分图)

## ■ 总结

使用 GCMS 和 GC-SCD, 可以在不需要预处理的情况下分析肠道细菌产生的挥发性气体。GCMS 可进行全面分析, GC-SCD 可分析使用 GCMS 难以测定的含硫成分。此外, 在正常菌群定殖的小鼠样品产生的挥发成分中检测出个体差异, 具有探索生物标志物等潜在功能。

### < 致谢 >

感谢协同乳业株式会社的松本光晴主任研究员对本检测提供的供应样品等的协助。

GCMS、GCMS-QP 及 Nexis 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。

Tenax 是 Buchem B.V. 的注册商标。

SIMCA 是 Sartorius Stedim Data Analytics AB 的注册商标。

此外, 本文中出现的公司名称和产品名称是各公司的商标及注册商标。

本文中可能对“TM”和“®”进行了省略。

岛津应用云



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: 2020年6月