

Application News

No. G309

气相色谱法

GC-FID 法研究食品代谢组学

包括食品在内的生物源产品含有多种成分，通过对这些成分进行全面分析，可以了解批次和制造方法差异对产品的影响，并根据成分模式预测未知产品的特征等。此类研究最近正在食品领域盛行，这类研究通常被称为代谢组学，研究时需要结合如多元分析和机器学习等分析软件，是最热门的分析方法之一。

质谱仪（如 LC-MS 和 GC-MS）已被视为代谢组学必不可少的工具。质谱仪具有出色的定性能力，在对检测到的成分进行识别时发挥着强大的功能。但另一方面，质谱仪也存在一些问题，如装置容易积蓄污垢，更新仪器调谐信息前后数据的质量有很大变化，所以不适合用于长期获取大量数据。特别是在 GC-MS 中，样品需通过三甲基硅烷化处理（TMS 化）来测定代谢物，但在衍生化后，多数 TMS 化的化合物峰强度会随着时间的推移而降低。为了获得良好的测定结果，在衍生化后必须尽快完成分析。

在本文中，我们研究了是否可以用 GC-FID 代替 GC-MS 进行代谢组学分析，结果发现 GC-FID 可以检测到与 GC-MS 相当数量的化合物，并且无论衍生后的样品放置数小时或者数天，这些峰的强度都比 GC-MS 所得结果稳定。这表明 GC-FID 的稳定性可使其成为代谢组学中长期获取大量数据的有效工具。

T. Sakai, Y. Takemori

■ 样品的前处理和分析

准备市售的啤酒作为样品，并按下述方法进行提取和衍生化。

取已通过超声仪脱碳的 50 μL 啤酒于 1.5 mL 微管中。添加 10 μL 的 2-异丙基苹果酸水溶液 (0.5 mg/mL) 作为内标后，再添加 250 μL 比例为 2.5:1:1 的甲醇:水:氯仿溶液，并在 37°C 下震荡 30 分钟。在 16,000G 下离心 3 分钟后，移取 225 μL 上清液，并向其中加入 200 μL 超纯水。充分混合后，将混合物在 16,000G 下再次离心 3 分钟，移取 250 μL 上清液于浓缩离心机中干燥过夜。

将 80 μL 的甲胺盐酸盐吡啶溶液 (20 mg/mL) 加入干燥的样品中，在 30°C 下震荡 90 分钟。随后，添加 40 μL 的 N-甲基-N-三甲基硅烷基三氟乙酰胺 (MSTFA) 在 37°C 下震荡 30 分钟，16,000G 下离心 3 分钟，使溶液中的残留物沉淀，移取 100 μL 上清液于 GC-MS 分析瓶中备用。

在相同的 GC 条件下，分别通过 GC-FID 和 GC-MS 对该样品进行分析，并比较分析结果。

■ 分析条件

分析条件如表 1 所示。GC 条件参考自岛津 GC-MS 软件产品 Smart Metabolites Database™。

表 1 测定条件

- GC -	
Column	: DB-5 (30 m \times 0.25 mm, 1 μm)
Inj. Mode	: Splitless
Inj. Port Temp.	: 250 $^{\circ}\text{C}$
Oven Program	: (1) 100 $^{\circ}\text{C}$ (4 min) \rightarrow (10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) \rightarrow 320 $^{\circ}\text{C}$ (11 min) : (2) 100 $^{\circ}\text{C}$ (4 min) \rightarrow (4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$) \rightarrow 320 $^{\circ}\text{C}$ (11 min)
Carrier Gas Flow	: Linear Velocity (39.0 cm/sec)
Purge Flow	: 3.0 mL/min
- FID -	
Temperature	: 330 $^{\circ}\text{C}$
Sampling Rate	: 40 msec
FID H ₂ Flow Rate	: 32.0 mL/min
FID Makeup Flow Rate	: 24.0 mL/min
FID Air Flow Rate	: 200.0 mL/min
- MS -	
Analysis Mode	: Scan (m/z 35 - 500)
Ion Source Temp.	: 200 $^{\circ}\text{C}$
Interface Temp.	: 280 $^{\circ}\text{C}$
Loop Time	: 0.3 sec

■ 衍生化后的时间稳定性

图 1 为 GC-FID 的色谱图和 GC-MS 的总离子流图。为了研究目标化合物的时间稳定性，我们先对色谱图中红色标记的化合物绘制了峰强度随时间的变化（图 2）。

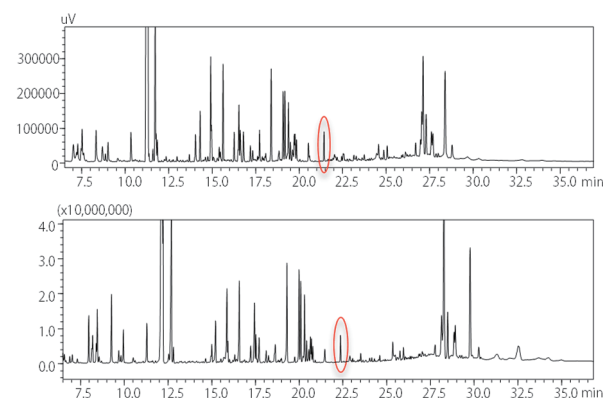


图 1 GC-FID 色谱图和 GC-MS 的总离子流图（通过升温程序 (1) 分析）

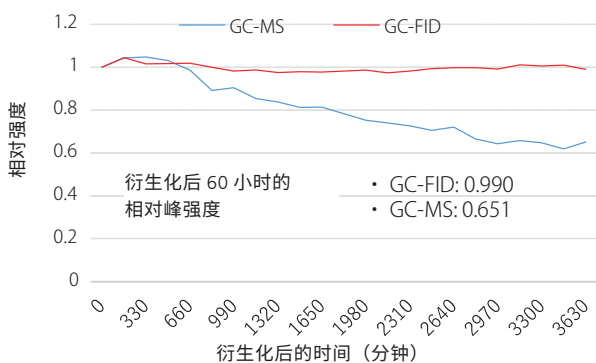


图 2 图 1 中红色标记的化合物峰强度变化 (衍生化后的时间为 0 时的强度值为 1)

图 1 中, 红色标记的化合物在 60 小时后 GC-MS 中的相对峰强度值降为 0.65, 而 GC-FID 为 0.99, 非常稳定, 几乎与 60 小时前相同。

随后, 对色谱图中其他峰进行了相同的验证。结果发现, GC-MS 中约 80% 的化合物相对峰强度值在 60 小时后降至 0.65 左右, 而 GC-FID 中约 80% 的化合物维持在 0.8-1.2 左右, 可以发现有很多稳定化合物存在 (图 3)。

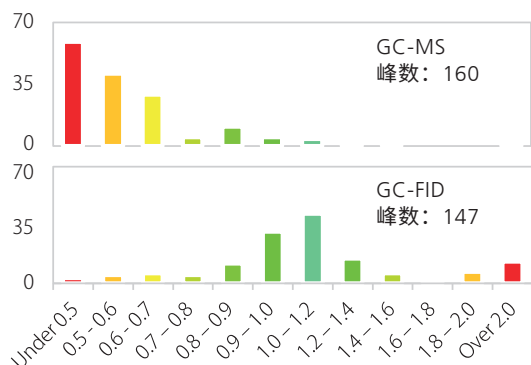


图 3 60 小时后 GC-MS 和 GC-FID 检测到的所有化合物的相对峰强度分布

■ 日间稳定性

储存经过上述前处理的干燥啤酒样品, 11 天后以相同的方式进行衍生化和仪器分析, 结果如图 4 所示。在 GC-FID 中, 化合物峰高几乎与 11 天前相同, 而 GC-MS 中呈现峰高降低的趋势。

图 5 显示了所有化合物的峰高度。GC-MS 中超过半数的峰的变化趋势较大, 而 GC-FID 中超过半数的峰维持在 0.9-1.2 左右。

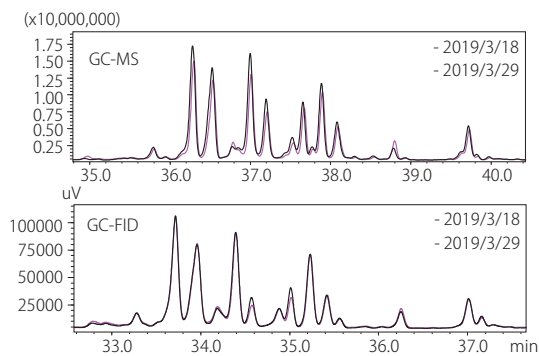


图 4 11 天后对同一样品进行衍生化和分析时的 GC-FID 以及 GC-MS 色谱图 (通过升温程序 (2) 分析)

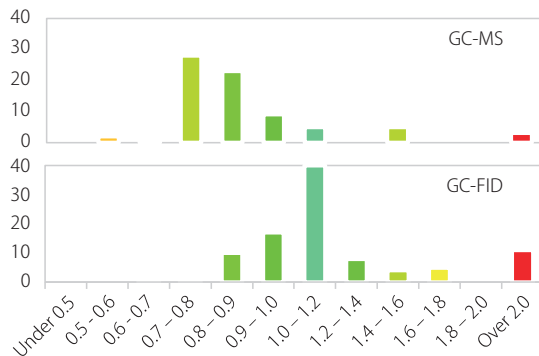


图 5 11 天后 GC-MS 以及 GC-FID 检测到的所有化合物的相对峰强度分布

■ GC-FID 研究代谢组学

选取 5 种不同厂家的同类型啤酒, 按照上述前处理步骤处理, 并分别通过 GC-FID 和 GC-MS 进行测定。对测定数据进行峰挑选, 分析主要成分, 得到如图 6 所示的得分图。可以看出, GC-FID 和 GC-MS 的得分图分布相对接近。

GC-FID 和 GC-MS 研究代谢组学基本可以获得相同的定性结果, 但 GC-FID 分析的数据稳定性可能更优于 GC-MS。

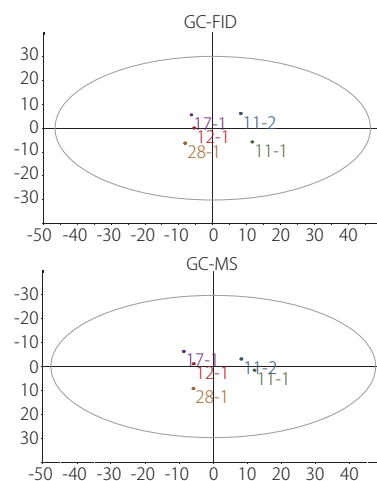


图 6 5 种不同厂家的同类型啤酒的得分图 (样品分别表示为 11-1、11-2、12-1、17-1 和 26-1)

岛津应用云



Smart Metabolites Database 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。



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: 2019 年 8 月