

Application News

No.M308K

GC-MS GCMS-QP™2020NX, GCMS-TQ™ NX series

고상유도체화법에 의한 유기산과 아미노산 분석

육수나 감미음료 등 당을 많이 포함한 시료의 유기산이나 아미노산을 분석할 때 전처리 과정에서 문제가 생길 수 있습니다. 예를 들면 동결건조 공정에서 샘플이 손실되거나 유도체화 시약을 첨가하는 공정에서 당에 의해 유도체화 시약이 변질되어 아미노산의 재현성이 나빠질 수 있습니다.

이런 문제를 해결하기 위해 샘플량을 줄인다든지, 희석을 한다든지 아니면 Split비를 올리는 등 다양한 노력을 하지만 전처리 과정 이외에도 당은 질량분석 장비의 오염에 큰 영향을 끼치는 것으로 알려져 있습니다. 차동배기를 갖춘 당사의 GC-MS에서는 견고성이 있어 튜닝으로 보정이 가능한 하지만, 무엇보다도 당을 선택적으로 제거하는 것이 가장 좋은 방법입니다. 본 Application news에서는 주식회사 아이스티사이언스의 Presh-SPE에 의한 고상유도체화법을 이용하여 당분이 많은 카페라떼에 포함된 유기산과 아미노산을 분석한 결과를 보고합니다.

표1 장치구성

GC-MS Model	: GCMS-TQ 8040 NX
Auto Injector	: AOC-20i Plus
Auto Sampler	: AOC-20s Plus
Column	: BPX-5 (30 m X 0.25 mm ID X d.f.=2.25 um)

표2 분석조건

Injection Temp.	: 250 °C
Injection Mode	: Split
Split Ratio	: 30
Carrier Gas	: He
Carrier Gas Control	: Constant linear velocity
Column temperature	: 60 °C(1 min)-(15 °C/min)- 330°C 330°C(1min)
Purge Gas	: 5 mL/min
Injection Volume	: 1 uL
MS	
Ion source temp.	: 200 °C
Interface temp.	: 280 °C
Acquisition mode	: MRM : Smart Metabolites Database

정확도, 피크 형상, 그에 따른 해석 시간의 공수 삭감을 위해 트리플 4중극 질량 분석계를 이용하여 MRM 모드로 측정하였습니다(표 1, 2).

■ 결과

시마즈 전처리 핸드북에 따른 전처리법과 고상유도체화법 모두 카페오레에서 검출된 유기산과 아미노산의 수는 거의 동등하였습니다(표 3).

표 3 유기산과 아미노산의 검출 수

# of cpds found	Conventional	Presh
Organic Acid	41	40
Amino Acid	7	7

재현성(n-5)에서도 전처리 핸드북을 따른 전처리법과 고상유도체화법 모두 거의 동등하였습니다(표 4).당이



그림 1 Presh(좌측)와 GCMS-TQ™8040 NX(우측)

■ 시료의 전처리

시판 중인 카페라떼 중의 유기산과 아미노산을 2가지의 다른 전처리법으로 추출하였습니다.

많은 시료임에도 불구하고 샘플 양을 줄이거나 희석을 하지 않고 전처리를 한 아미노산의 재현성은 고상유도체화법이 더 좋은 결과를 얻었습니다.

표 4 유기산과 아미노산의 재현성

% RSD	Conventional	Presh
Organic Acid	18.0	25.2
Amino Acid	47.2	27.2

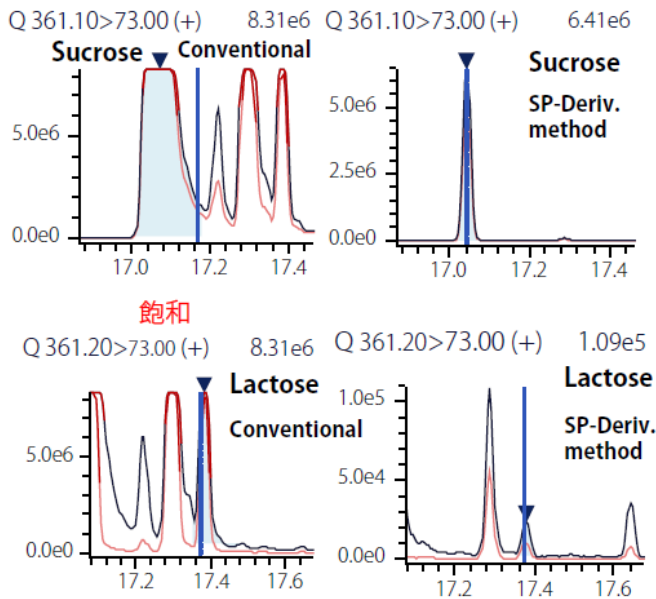


그림 2 당 제거 결과

Smart Metabolites Database™는 유기산과 아미노산 외에 지방산과 핵산과 당도 포함되어 있습니다. 시마즈 전처리 핸드북에 따른 전처리법과 고상유도체화법에서는 거의 동등한 Total 화합물 수가 검출되었습니다. 다변량 해석의 경우 데이터의 전처리(결손값 처리, p값에 의한 변수처리, 상관관계에 의한 변수처리, 정규분포에 의한 변수처리 등)를 반드시 하는 것과 검체 수가 많은 것을 고려하면 변수 121과 102의 차이는 그렇게 크지 않다고 할 수 있습니다.

표 5 검출된 Total 화합물 수

# of cpds detected	Conventional	Presh
Total	121	102

1 샘플당 10분의 전처리와 23분의 MRM 분석 뿐만 아니라, 데이터 해석의 고속화에서도 Traverse MS(Reifycs사)를 조합함으로써 가능하게 됩니다. MRMPROBS 알고리즘을 이용하는 것으로 데이터 판독으로부터 약 5분만에 다변량 해석결과를 출력합니다.

■ 고찰 및 정리

당을 많이 포함한 시료는 전처리 과정에서 문제를 일으키는 것으로 알려져 있습니다. 그럼에도 불구하고 당을 선택적으로 제거하는 것은 예전부터 곤란하게 여겨져 왔습니다.

주식회사 아이스티사이언스의 Presh-SPE에 의한 고상유도체화법을 이용하여 당분이 많은 카페라떼에 포함되는 유기산과 아미노산을 분석한 결과, 검출수나 재현성에 대해 시마즈 제작소의 전처리 핸드북과 거의 동등의 결과를 얻을 수 있었습니다.

1 샘플당 10분의 전처리 시간은 기존의 1.5일보다 월등히 빠른 것으로 Smart Metabolites Database의 MRM wide target 분석의 23분과 조합함으로써 매우 효과적인 스크리닝법이 될 수 있습니다.

주식회사 아이스티사이언스의 사사노 료이치 대표에게는 고상 유도체화법의 진행방법이나 구조에 대해 유익한 조언을 받았습니다. 진심으로 감사드립니다.

GCMS-TQ, GCMS-QP 및 Smart Metabolites Database는, 주식회사 시마즈 제작소의 일본 및 그 외 국가에서의 상표입니다. Traverse MS는, Reifycs 주식회사의 상표입니다.