



台灣力可儀器股份有限公司
10485 台北市民生東路二段 170 號 7 樓
(02) 2518-4699
leco_taiwan@leco.com.tw

GCXGC TOFMS 應用於代謝物分析

代謝物研究的特點：

樣品基質複雜，成份成千上百，且濃度差異大，微量物質多。相對於對照樣品，分析樣品變化未知，未知物多。

氣相層析質譜儀(GC-MS)相對於液相層析質譜儀(LC-MS)的優點是，方法成熟、有圖譜比對、結果可靠、效率高；缺點是，不適合分析大分子(質量數 1,000 以上)、熱不穩定分子(不宜衍生化)。現在一般市面上的 GC-MS 分析方法，波峰數量少、分離能力有限、圖譜範圍比對性差，效率低，前處理淨化要求，對定性定量造成偏差，再現性不好，尤其是有波峰包覆(coelution)的干擾問題，無法有效解決方法。

氣相層析質譜儀(GC-MS)做為代謝物的基礎方法與其他技術(如 NMR)相結合，可以得到較好的結果。對於醫學研究中心，氣相層析質譜儀可以做為基礎性設備。

代謝物學研究，對於氣相層析質譜技術提出什麼樣的要求呢？

1. 對層析分離能力的要求。

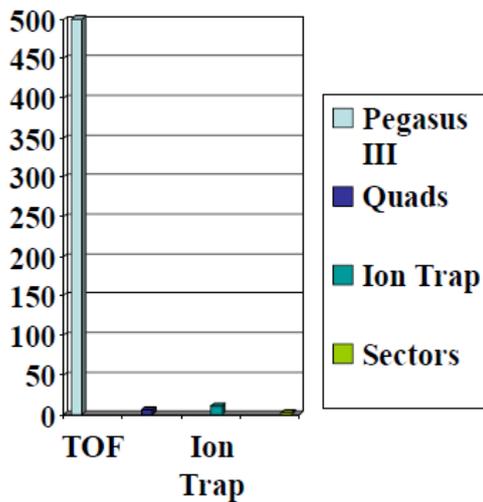
代謝物樣品成份組成複雜，目前一維氣相層析(GC)技術，只能對 200 個左右的化合物波峰進行有效的分離；然而，二維氣相層析質譜儀(GCXGC)技術，可以完全分離上萬個波峰。LECO GC-TOFMS，有很好的升級空間，可以順利將 GC-TOFMS 升級為二維氣相層析飛行式時間質譜(GC×GC-TOFMS)。GC×GC-TOFMS 是現在市面上，最佳技術的氣相層析質譜儀，對於代謝物小分子範圍的研究，有無可比擬的優勢。目前，越來越多的代謝物研究工作者，都採用了這種技術方法。

2. 對質譜分析能力的要求。

一般質譜只能對較好分離的波峰進行分析並得到光譜資料，對於波峰包覆的化合物的解析能力很差。LECO GC-TOFMS 可以對波峰包覆進行自動重疊解析(deconvolution)，所得到的波峰數量遠多於一般 GC-MS。代謝物研究成份越多，對質譜的資料獲取能力要求也越高，LECO GC-TOFMS 擁有最快的掃描速率(500 scans/sec)，能記錄下足夠數量的化合物資料以進行解析。LECO 獨特的專業軟

體，重疊解析(deconvolution)功能，高效率並且正確的解析出我們關心的成份資料。如果，質譜沒有快速的掃描速率；軟體沒有強大的資料處理能力，是不能對實際的代謝物樣品進行良好分析的。

下圖可以看出 LECO Pegasus 飛行式時間質譜(GC-TOFMS)在掃描速率上的優勢：

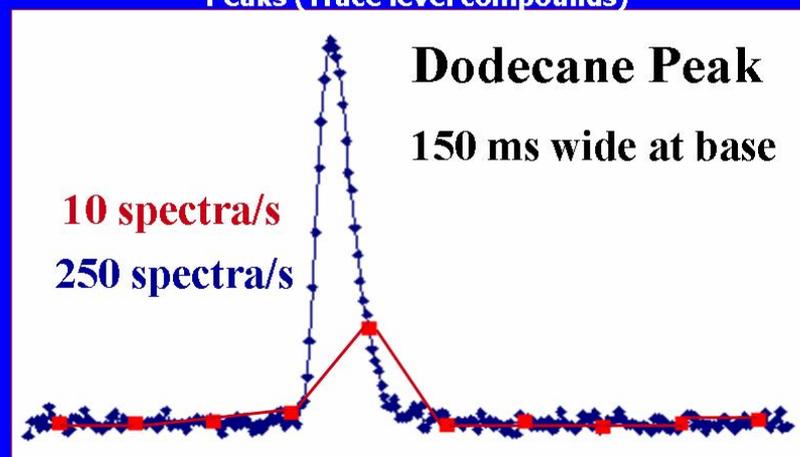


- Pegasus - up to 500 spectra/sec
 - Quadrupole - 5 spectra/sec
 - Ion Trap - 10 spectra/sec
 - Sector - 3 spectra/sec
- ***Pegasus IV is by far the fastest MS detector available***

LECO GC-TOFMS 所具有的快速獲取速率及高靈敏度，保證分析資料的高獲取量，進而保證對於代謝物變化及快速氣相層析中的微量成分，能有很好的波峰描繪，這對於定性及定量都是極重要的。250 scans/sec(LECO GC-TOFMS)與 10 scans/sec (Quadrupole GC-MS 的極限)獲取速率比較，請見下圖。

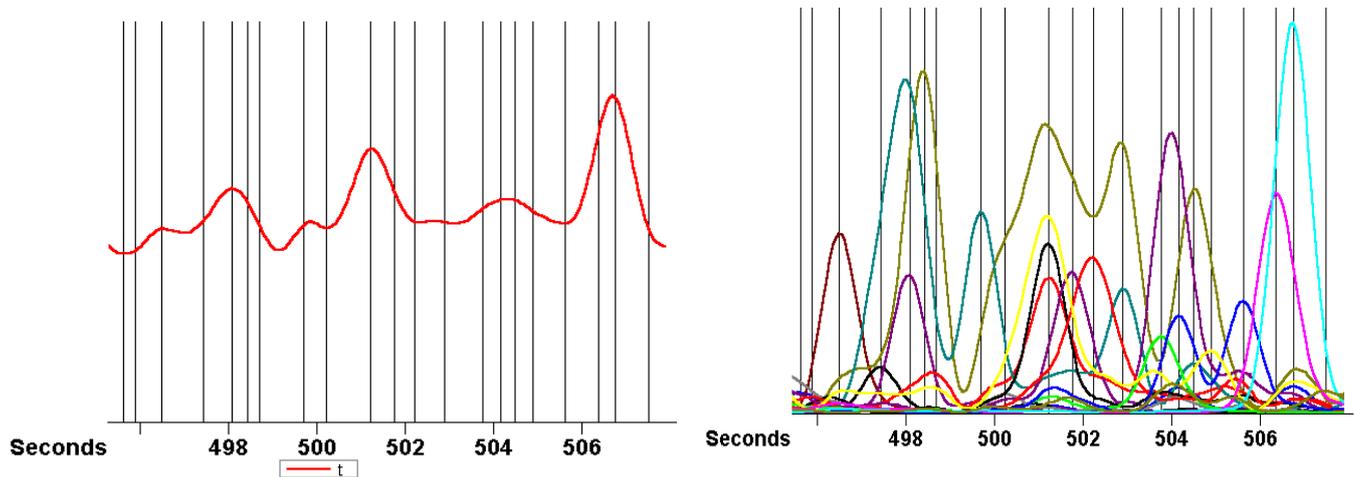
Data Density Provides More Accurate Peak Height and Area Measurements

Slower Acquisition Rates Cannot Accurately Define Narrow Peaks (Trace level compounds)



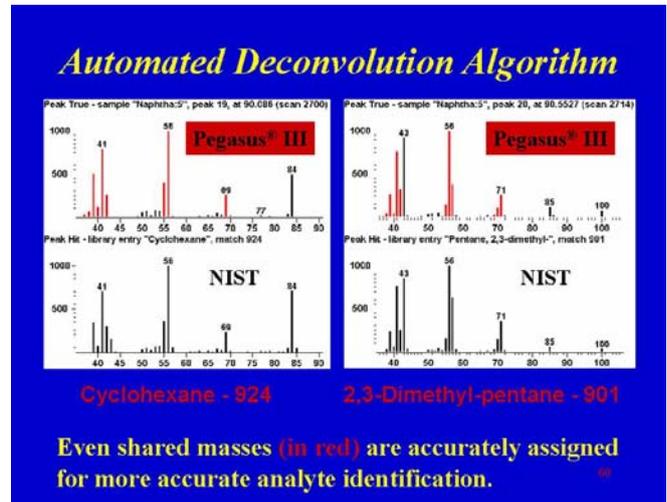
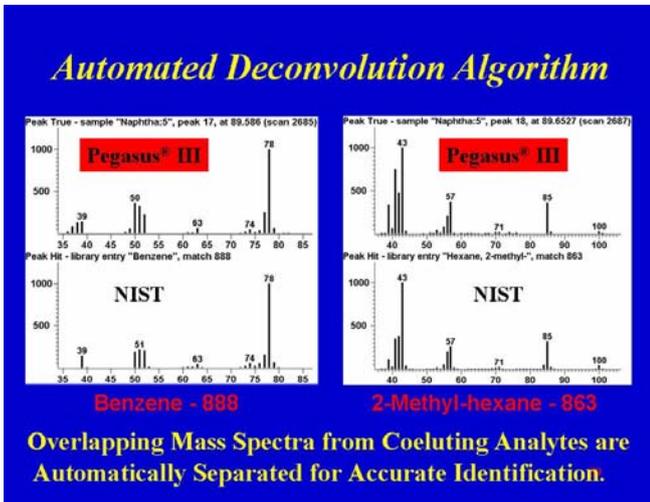
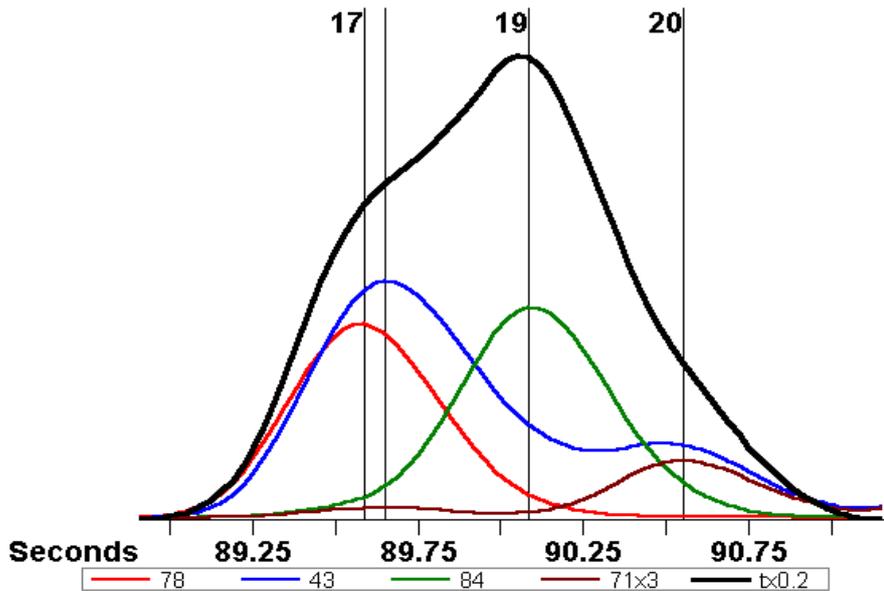
植物體及動物體的代謝變化，往往被高濃度的基質背景干擾所遮蔽。怎樣才能找出它們，並且定性及定量研究呢？

LECO 獨家提供的**波峰辨識(Peak Find™)**功能，可以在極高波峰包覆性遮蔽的情況下，找出所有的化合物，即使是隱藏在基線底下。下圖的例子並不特殊，我們每一個代謝物樣品都或多或少有這種情況存在。

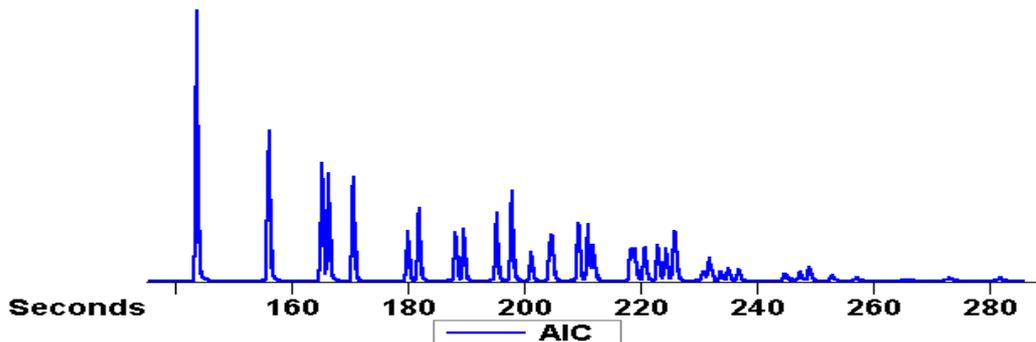
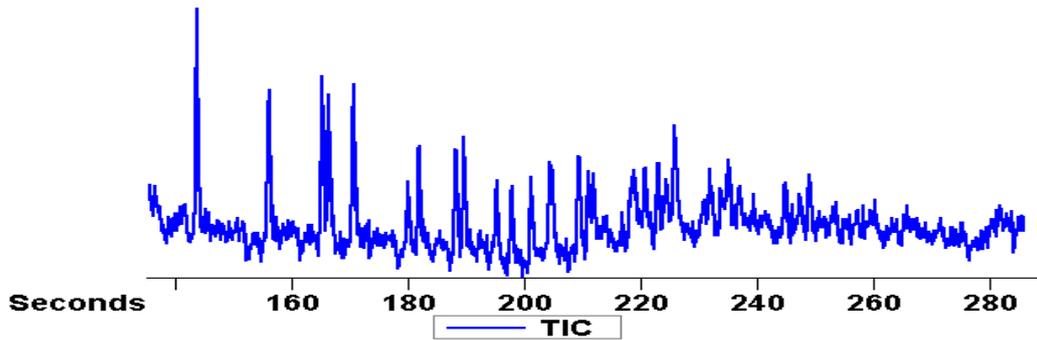


上圖：共有 21 個波峰，經由**波峰辨識(Peak Find™)**功能，自動標記出所有的化合物

不同於其他質譜設備，LECO GC-TOFMS 盡可能的將所有化合物離析出來。對於目標分析物(不只已知物，還包括未知物)的確認，必須其光譜圖要能與標準圖庫的比對符合度高，才能幫助我們定性分析。對於這一點，LECO GC-TOFMS 從設計原理上就有先天優勢。自動**重疊解析(deconvolution)**能力遠在 AMDIS 之上，可以保證快速、準確地在包覆性波峰中解析出乾淨的光譜圖。這也是為什麼，LECO GC-TOFMS 的定性能力，可以幾倍高於其他質譜設備的關鍵原因所在。(如果是 GCXGC-TOFMS 則可達幾十、幾百倍以上；一次進樣即可定性上萬個化合物)



重疊解析(deconvolution)功能，在複雜性包覆波峰情況下，解析出乾淨的光譜圖，TOF 所賦予的獨特分析能力及強大的軟體處理能力。LECO 的重疊解析(deconvolution)，可以輕鬆在上百萬倍的背景下，自動檢測出微量目標物，這在一般GC-MS (AMDIS, NIST)上是無法實現的。請看上圖，第 17、18 個波峰，僅相隔 0.07 秒，第 19、20 個波峰，大部分的碎片離子相同。



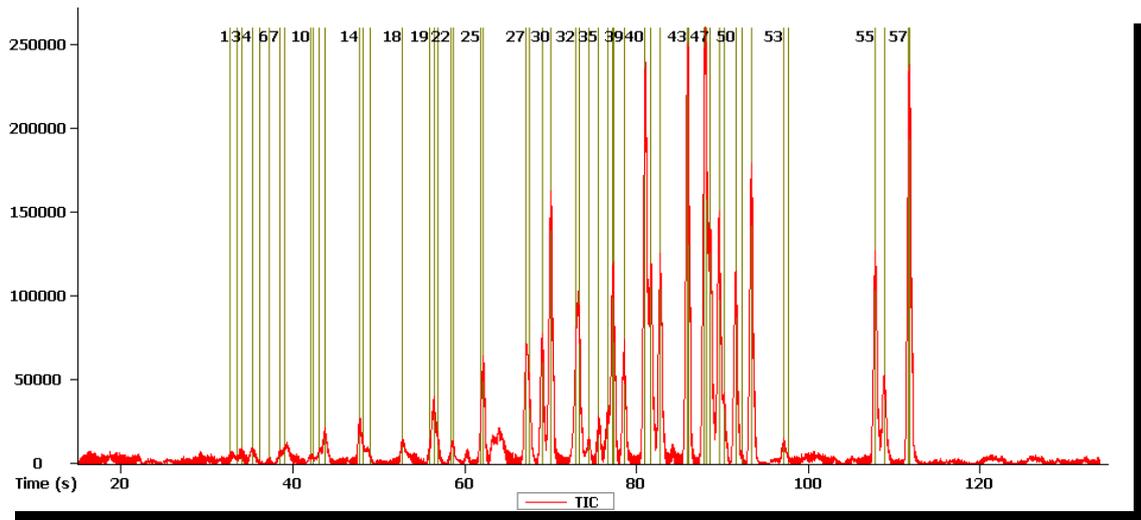
使用篩選部份化合物功能後的光譜圖(AIC)，高雜訊比(S/N)，所得的圖譜較乾淨，易於判讀資料。

高雜訊比(S/N)

LECO 對生物實際樣品的全範圍掃描靈敏度高，無品質瑕疵、分析濃度範圍廣。

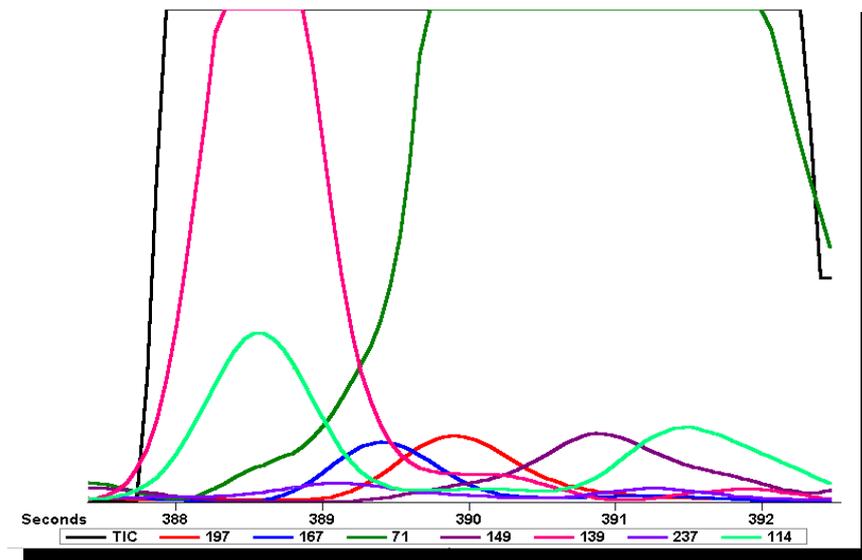
高產量

代謝物研究樣品量很大。整套系統的處理速率很重要，也是很實際的問題。LECO GC-TOFMS 可達到最快速的氣相層析質譜方法。LECO 的代謝物分析解決方案，可在單位時間內處理更多的樣品，自動辨識、分析、組織及報告結果呈現。而且，TOF 的高耐受性及解析分辨能力，可降低對前處理的要求。



上圖：EPA 8260B Volatiles 分析時間低於 2 分鐘！5 分鐘之內可以再度進樣。
(標準方法需要 75 分鐘)

LECO ChromaTOF 專業軟體系統的自動化程序處理極佳，大大地簡化了人工控制以及對人員的要求。自動**波峰辨識(Peak Find™)**功能，自動將化合物找出並標記所有波峰(即使是在 40 萬倍的背景干擾下)。**樣品比對(Sample Comparison)**功能，可以自動進行樣品間的全光譜比對，找出樣品間成份的差異報告。



自動**波峰辨識(Peak Find™)**功能，可以一次分析同時得到已知及未知物的資料！

LECO GC-TOFMS 及 ChromaTOF 專業軟體，對於波峰包覆的重疊解析(deconvolution)能力，是現有質譜技術中最为有效的，完全相容於代謝物分析的相關硬體、資料介面及圖庫。全自動多功能進樣器、自動衍生化元件、超快速程式溫控系統，使設備可拓展升級的空間大大增強。

以下為部分代謝物參考客戶名單：

Max Plank Institute (Germany) (4)
University of California,
Paradigm Genetics
Purdue University (USA)
Universtiy of Washington (USA)
DOW AgroScience
Pioneer Hi-Bred
University of Umea (Sweden)
Melbourne University (Australia)
DNS Research (Japan)
University of Amsterdam (Netherlands)
University of Manchester (UK)
University of Aberystwyth (Wales)
Dept. of Health and Soc. Services USA
DNA Research (Japan)
中國藥科大學,藥物代謝動力學及代謝組學中心
中國科學院大連化物所, 代謝組學中心
中國科學植物所, 代謝組學中心
國立台灣大學藥學系, 基因體中心
中研院農業生物科技研究中心
.....

軟體介面操作簡單，使用方便

LECO ChromaTOF 專業軟體設計新穎，與 Window Explorer 流覽器介面相似，所有參數及方法設置，以列表選擇式或填空式設計。使用方便，操作簡易，深受好評。

售後服務保障

LECO 在美國有 70 年以上的歷史，所生產的分析儀器遍佈全球各地，台灣分公司也成立 15 年以上，各種領域的客戶眾多。在北京、上海、香港、都設有辦事處及售後服務維護團隊，在馬來西亞，還成立亞洲區技術服務中心，保證提供及時的相關服務。

Quadrupole、Ion Trap、Magnetic Sector 等質譜設備，對於代謝物分析有哪些缺陷呢？

- ※ 資料獲取速率極低，無法滿足對代謝樣品採集及解析的要求。
- ※ 資料大量流失，Quadrupole 和 Ion Trap 都是掃描式質譜設備。任一時間內，只有符合某一 m/z 的特定離子，才能通過分析器到達檢測器，其他所有離子都被丟棄不用，而且，會污染在四極管上(四極桿要清洗、兩三年後需更換)。相反的，LECO TOFMS 的掃描，是在任何時間的所有樣品離子都在分析器中飛行，最後都同時到達檢測器形成分析。高資料獲取速率，可以為準確的定性及精確的定量，提供足夠的質譜資料。
- ※ 全掃描靈敏度低，只能做少數目標物分析。不能找出未知物及非目標分析物的資料。

Quadrupole 及 Ion Trap 大多是用在，已知物質的 SIM 選擇離子掃描的應用上，樣品要求完全需要已知或是目標分析物及變化完全已知物。對於全掃描，則耗時長、靈敏度很低、資料獲取數量極差，這對於代謝物的研究是致命傷。LECO TOFMS 的全範圍掃描速率是 500 scans/sec，靈敏度遠比 Quadrupole 高(pg 等級的 TIC)，6~7 階的動態線性範圍及高資料數量，保證得到優異的定量結果，對於不同濃度的成份，也有很好的表現。LECO TOFMS 特別擅長半已知物、完全未知物的寬動態範圍分析；高靈敏度的全範圍掃描是 LECO TOFMS 在代謝物研究中，優於 Quadrupole 及 Ion Trap 的重要特性。
- ※ 不能升級為二維氣相層析(GCXGC)系統。

因二維氣相層析(GC×GC)技術，在生物代謝方面的適用性，其應用日益增多；而二維氣相層析與快速氣相層析技術相同，對於質譜的採集速率有很高的要

求。目前為止，只有 LECO TOFMS 才能整合為二維氣相層析，其他質譜設備都是因為極低的掃描速率，而無法採集到二維氣相層析所產生的大量資料。因此，全球最快速氣相層析質譜技術及對複雜樣品解析能力最強的氣相層析質譜技術，都出自 LECO。除了硬體優勢，GC×GC 提供的巨大的資訊量，只有在 ChromaTOF 專業軟體上才可以 **快速準確** 的運算分析，這些都是有專利保護的技術壁壘，進而保證儀器水準在若干年內，都能保持先進性及可升級性。

※ 動態分析範圍非常有限。高濃度化合物與低濃度化合物干擾嚴重，無法分析。同一次分析中有效的監測濃度範圍小，資訊量受局限，尤其是 Ion Trap AG，自動限制了阱中離子數，往往喪失了高濃度差干擾下對微量化合物的反應。LECO TOFMS 及 GCXGC 技術，在這一方面非常有優勢，動態分析範圍無人能出其右。

※ 維護複雜。

代謝物樣品較“髒”，尤其是動物樣品。這對於質譜的耐用性及穩定性都有很高的要求。Quadrupole 及 Ion Trap 日常維護多，離子源需要經常清洗、換件，桿區內也需要定期清洗(需要工程師操作，並且對儀器靈敏性會有影響)，定期還需要更換(成本很高)，分子幫浦性能不高，檢測器容易老化(一定時間後，靈敏度會大幅下降)。維護工作需要停機進行，不但影響工作效率、耽誤時間，而且對儀器整體性能的傷害也是必然的。LECO TOFMS 承諾，離子源區終身免清洗，分析區無需耗材。

※ 全系統整體評估低於 LECO TOFMS。

靈敏度、動態線性範圍、掃描速度、有效品質範圍、穩定度、真空性能(最大載氣流量)。

其他質譜設備

Magnetic Sector 質譜則用於“乾淨”樣品的精確品質分析，非高產量，日常成本高，在代謝物領域並非其對口應用。

傅立葉變換離子迴旋共振質譜(FT-MS)在代謝物雖也有較好的應用，但因為其成本高、運行費用高、使用技術難度高。

一般 GC-TOFMS 為中、高辨識型質譜，適用於有機合成、標準物分析。其掃描速率極低，對實際動、植物樣品資訊收集量很少，無法解析波峰包覆重疊化合物，沒有自動重疊解析能力及自動波峰辨識功能。很重要的是，其檢測器信號倍增器只有一個，動態線性範圍窄。一般 GC-TOFMS 的軟體功能無優勢，資料無壓縮技術，處理速度慢，也不能升級為二維氣相層析；其運行可靠性及定量能力，深受垢病，與代謝物常用的其他組

件相容性差，在代謝物領域應用較少。

綜合以上所述，針對於研究方向，LECO Pegasus GC-TOFMS 氣相層析飛行式時間質譜儀，是一部客戶使用優異的理想選擇。目前，世界上代謝物領域，使用該儀器進行相關的科學研究工作是一個熱門，因此，希望透過儘快引進這台儀器，能夠帶動起台灣一系列的科學研究分析工作，與世界上相關領域的科學發展同步。