

Zweidimensionale Gaschromatographie mit Quadrupol-MS-Detektion (GCxGC/qMS) in der Metabolomanalytik: Potential und Grenzen

Christoph H. Weinert, Karlsruhe/D, Björn Egert, Karlsruhe/D, Gerhard Rechkemmer, Karlsruhe/D und Sabine E. Kulling, Karlsruhe/D.

Christoph H. Weinert, Max Rubner-Institut, Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe

Die zweidimensionale Gaschromatographie (GCxGC) wurde in den letzten beiden Jahrzehnten zu einer reifen Technologie mit exzellenter Trennleistung und hoher Sensitivität entwickelt. Da die Basisbreiten von GCxGC-Peaks im Millisekundenbereich liegen, werden Detektoren mit einer hohen Datenaufnahmerate benötigt; bislang wurden meist Flammenionisationsdetektoren oder Time-of-Flight-Massenspektrometer eingesetzt. Ziel unserer Arbeit war es, die Eignung eines GCxGC-Systems mit Quadrupol-MS-Detektion (qMS) für die ungerichtete Metabolomanalytik zu prüfen.

Dazu wurde zunächst die Leistungsfähigkeit eines Quadrupol-MS-Detektors mit einer Datenaufnahmerate von 20000 amu/s (Shimadzu QP2010 Ultra) als GCxGC-Detektionssystem bewertet. Bei Wahl einer Säulenkombination mit geeigneten Dimensionen werden selbst im Scanmodus über einen Bereich von m/z 60-550 mindestens 10-12 Datenpunkte pro Peak erreicht. Bei Analysenzeiten von unter einer Stunde können in biologischen Matrices (Lebensmittelextrakte, Plasma, Urin) pro Lauf ca. 200-350 Analyten chromatographisch getrennt werden. Das System zeigt eine gute Langzeitstabilität auch bei starker Matrixbelastung, insbesondere bei Anwendung der temperaturprogrammierten Injektion (PTV). Die Retentionszeiten der Peaks im zweidimensionalen Raum sind hierbei über mehrere Messtage stabil.

In einem weiteren Schritt wurde ein zweistufiges Datenauswertungsverfahren entwickelt. Dabei werden 1000-2500 Peaks pro Lauf auf Rohdatenebene automatisiert integriert und die Analyten anhand des Massenspektrums und des Retentionsindex identifiziert. Die weitere Datenverarbeitung mittels eines selbstentwickelten Software-Pakets (Programmiersprache R) besteht in der Zusammenführung der Daten aller Läufe einer Messreihe sowie in der Durchführung von Maßnahmen zur Datenreduktion, zur Korrektur der instrumentellen Drift, zur statistischen Auswertung und zur Datenvisualisierung. Dieses Datenverarbeitungsverfahren ermöglicht die sichere Erkennung von Unterschieden zwischen verschiedenen Gruppen (z.B. Früchte verschiedener Sorten, unterschiedlich behandelte bzw. erzeugte Lebensmittel, verschiedene Ernährungsweisen von Probanden etc.) sowie die Identifikation der relevanten Markeranalyten.

Das GCxGC/qMS-System und das etablierte Datenauswertungsverfahren wurden für nicht-gerichtete Metabolomanalysen in der Lebensmittel- wie der Ernährungsforschung erfolgreich angewandt: Bei einem Vergleich von Tomatenfrüchten verschiedener Genotypen konnten potentielle Marker für eine erhöhte Resistenz gegenüber dem Schadpilz *Alternaria alternata* identifiziert werden. Potentielle Marker für das Alter und das Geschlecht der Probanden sowie für den Konsum bestimmter Lebensmittel wurden durch GCxGC/qMS-Analysen von Plasma- und Urinproben einer großen Humanstudie ermittelt.