

液相色谱质谱联用法分析羊毛提取液中的18-甲基二十烷酸

LCMS-016

摘要：本实验采用液质联用法测定羊毛提取液中18-甲基二十烷酸的含量。结果显示该仪器对18-甲基二十烷酸具有宽的线性范围(1-1000 $\mu\text{g/L}$)，良好的线性关系($r=0.9997$)，高的精密度(保留时间和峰面积RSD分别为0.078%和5.676%)以及低的检测限(0.05 $\mu\text{g/L}$)。考察了萃取法和超声萃取法对18-甲基二十烷酸提取效率的差异，结果显示超声萃取法具有更高的萃取效率。

关键词：液相色谱质谱联用 羊毛提取液 18-甲基二十烷酸

18-甲基二十烷酸(18-MEA)广泛存在于动物毛发中，是毛发的疏水层，该疏水脂质能中和静电，防止水进入及其他类型的伤害。羊毛外端鳞片表层共价结合脂肪酸类脂体层F层，主要是18-MEA，位于羊毛最外层，包绕每一个鳞片。F层呈强疏水性，虽然仅几个纳米，却是染色的初始屏障。纺织行业一直研究F层类脂体的变化(主体研究18-MEA)与羊毛染色性的变化之间的关系。由于提取羊毛中微量的18-MEA并进行检测需要仪器具有高的灵敏度，因此采用质谱仪定量检测羊毛提取液中微量的18-MEA十分有意义。

实验部分

1.1 仪器概况

本实验使用岛津UFLCXR/LCMS-2020快速液相色谱质谱联用系统，具体配置为LCMS-2020质谱仪，LC-20ADXR \times 2输液泵，DGU-20A5在线脱气机，SIL-20ACXR自动进样器，CTO-20AC柱温箱，CBM-20A控制器，和LCMSsolution 5.1色谱工作站。

1.2 分析方法

1.2.1 液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS II 2.0 \times 100 mm, 2.2 μm
流动相：A - 0.1%氨水/10 mM醋酸铵水溶液；B - 甲醇

流速：0.3 mL/min

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

进样量：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱

梯度条件：初始80%B，梯度如下

Time (min)	B.Conc.%
10.00	95
15.00	95
15.01	80
20.00	Stop

1.2.2 质谱条件

离子源：ESI，负离子扫描

监测离子m/z：325.3

采样周期：0.1 s

加热模块温度：200 $^{\circ}\text{C}$

DL温度：300 $^{\circ}\text{C}$

雾化气流速：1.5 L/min

干燥气流速：10 L/min

离子源电压：-3.5 kV

检测器电压：1.10 kV

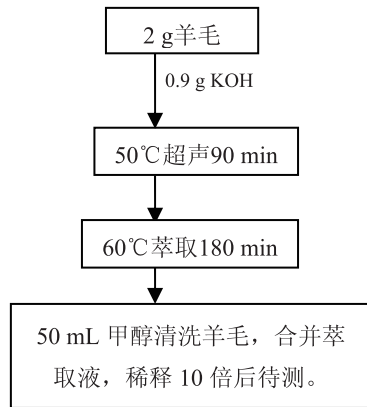


图1 样品前处理步骤

分析结果

2.1 标样的色谱图及质谱图

图2为本方法检测18-MEA标样的提取离子流图(浓度为1000 $\mu\text{g/L}$)。图3为18-MEA标样的质谱图(浓度为1000 $\mu\text{g/L}$, m/z 为325.3)。

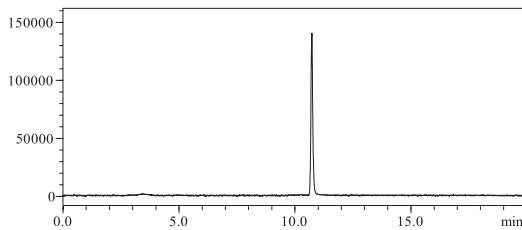


图2 18-MEA 标样的提取离子流图

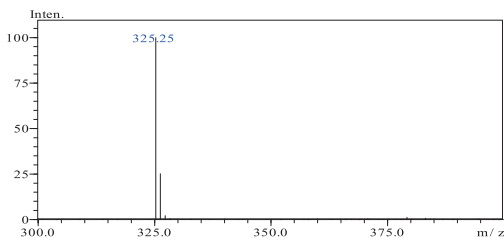


图3 18-MEA 的质谱图

2.2 精密度

1000 $\mu\text{g/L}$ 的标样连续测定5次(图4), 考察方法的精密度, 以保证测试结果的准确性。保留时间和峰面积的RSD%结果如表1所示, 结果显示仪器的精密度良好。

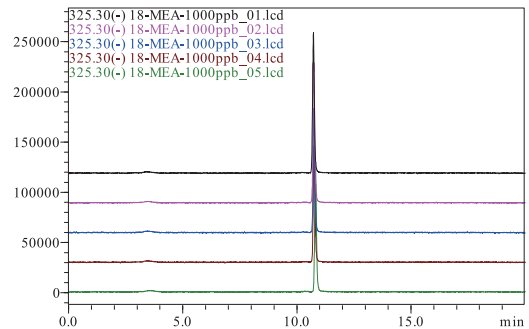


图4 重复5次进样的色谱图

表1 保留时间与峰面积的重现性

No.	保留时间(min)	峰面积
1	10.728	786,530
2	10.747	783,234
3	10.749	689,735
4	10.744	717,115
5	10.747	734,000
Average	10.743	742,123
RSD%	0.078	5.676

2.3 标准曲线

取标准品, 用甲醇稀释成浓度为1000 $\mu\text{g/L}$, 500 $\mu\text{g/L}$, 100 $\mu\text{g/L}$, 50 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$ 和1 $\mu\text{g/L}$ 的标准工作液, SIM模式定量, 以峰面积为横坐标, 浓度为纵坐标绘制工作曲线 $Y=(871.851)X+(9146.49)$, 所得曲线线性关系良好, R达到了0.9997。标准品的浓度及峰面积结果见表2。

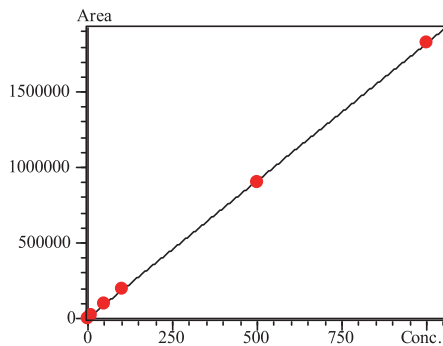


图5 18-MEA 的标准曲线

表2 标准品的浓度及峰面积

浓度(μg/L)	峰面积
1000	1829122
500	902906
100	194054
50	98395
10	21631
1	2097

2.4 检测限

以三倍噪声计算得出18-MEA的检测限为0.05 μg/L, 定量限为0.16 μg/L。

2.5 实际样品分析结果

采用萃取法和超声萃取法提取18-MEA, 外标法定量。

2.5.1 萃取法的分析结果

平行提取6份羊毛进行测试, 采用萃取法提取的羊毛中18-MEA含量为367.85 μg/g。样品的总离子流图, 检测离子流图, 和测试结果如下。

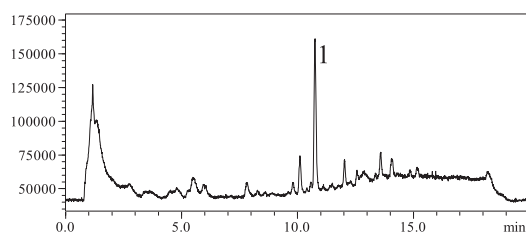


图6 (1=18-MEA)萃取液的总离子流图

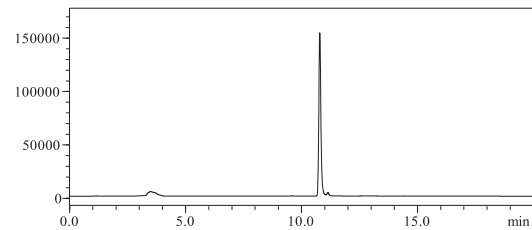


图7 萃取液的检测离子流图

表3 萃取液中的 18-MEA 含量

样品编号	面积	18-MEA 含量 (μg/g)
1	948513	365.77
2	930789	363.99
3	996018	389.62
4	958045	379.94
5	877405	350.22
6	908137	357.58
平均	936485	367.85

2.5.2 超声萃取法的分析结果

平行提取6份羊毛进行测试, 采用超声萃取法提取的羊毛中18-MEA含量为510.07 μg/g。样品的总离子流图, 检测离子流图, 和测试结果如下。

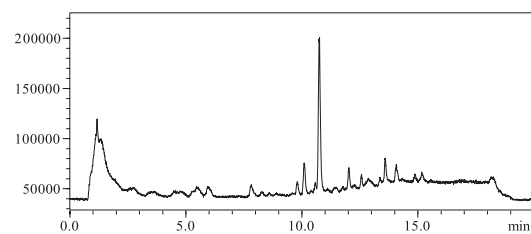


图8 萃取液的总离子流图

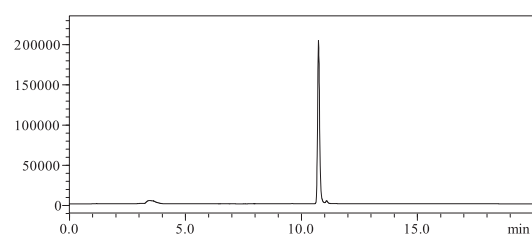


图9 萃取液的检测离子流图

表 4 萃取液中的 18-MEA 含量

样品编号	面积	18-MEA 含量 ($\mu\text{g/g}$)
1	1299917	519.69
2	1278242	494.07
3	1294983	507.08
4	1316758	522.80
5	1248971	482.15
6	1355783	534.67
平均	1299109	510.07

结论

本实验采用液质联用法测定萃取法和超声萃取法提取的羊毛中18-甲基二十烷酸的含量，结果显示超声萃取法具有更高的萃取效率。仪器性能考察结果显示，岛津LCMS-2020检测18-甲基二十烷酸具有宽的线性范围(1 $\mu\text{g/L}$ -1000 $\mu\text{g/L}$)，且相关系数为高达0.9997，保留时间和峰面积RSD%良好，分别为0.078%和5.676%，18-甲基二十烷酸的检测限仅为0.05 $\mu\text{g/L}$ ，说明仪器稳定性很好，灵敏度极高。