岛津
SHIMADZU
Excellence in Science

LC-MS/MS 测定大肠杆菌发酵液中 3- 羟基丙醛

LCMSMS-1040

摘要：本文采用岛津三重四极杆液质联用仪建立了大肠杆菌发酵产物 3- 羟基丙醛的定量分析方法。该方法中，在 0.05~5 μg/mL 浓度范围内线性良好，相关系数均大于 0.9998，准确度为 96.8~103.6%。实际样品中检出 3- 羟基丙醛，根据检出浓度，对样品进行加标，回收率为 90.5%。实验结果表明，该方法能快速准确定量分析大肠杆菌发酵产物 3- 羟基丙醛。

关键词：大肠杆菌　3- 羟基丙醛　LC-MS/MS

技术特点：

- 3- 羟基丙醛离子化效率差，在流动相中添加乙酸后可以形成稳定的二聚体加和离子 $[2M+CH_3COO]^-$，成功建立了 3- 羟基丙醛的 LC-MS/MS 方法。
- 发酵液组成复杂，基质干扰严重，经过调整流动相梯度和稀释样品减小发酵液基质对目标化合物的干扰，实现 3- 羟基丙醛 90.5% 回收率。

3- 羟基丙醛是一种具有重要工业价值的三碳化合物，在化工、医药和材料领域中应用广泛。作为合成 1,3- 丙二醇（PDO）、丙烯酸及其衍生物的关键前体，它在高性能聚酯纤维、涂料、溶剂以及生物基塑料的生产中发挥着不可替代的作用。此外，其衍生物还可用于药物中间体和功能性食品添加剂的制备，展现出极高的经济价值和应用潜力。

目前，3- 羟基丙醛的合成途径主要包括化学法和生物法。化学法通常以丙烯为原料，通过氧化反应获得目标产物，该方法工艺成熟且产率较高，但存在对石化资源的高度依赖、能耗高以及环境污染严重等问题。相比之下，生物法通过基因编辑技术对大肠杆菌等微生物进行代谢工程改造，利用可再生原料如甘油或葡萄糖实现绿色合成，展现出显著的环境友好性和可持续性优势。然而，由于微生物代谢网络的复杂性，目标产物可能对细胞产生毒性，从而限制产量。同时，关键酶（如甘油脱氢酶和醛脱氢酶）的活性优化对于提高转化效率和确保反应顺利进行至关重要。因此，监测发酵液中 3- 羟基丙醛的含量对于调控代谢网络、优化发酵过程具有重要意义。

本文基于 LC-MS/MS 技术建立了大肠杆菌发酵液中 3- 羟基丙醛的定量分析方法，该方法具有快速、灵敏度高的特点，能够准确测定发酵液中 3- 羟基丙醛的浓度，为大肠杆菌的基因改造及代谢通路调控提供了重要的数据支持和技术保障。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8050，具体配置为：

系统控制器	CBM-40	自动进样器	SIL-40C XR
脱　气　机	DGU-405	柱　温　箱	CTO-40C
输　液　泵	LC-40D XR×2	色谱工作站	LabSolutions Ver. 5.118

1.2 分析条件

液相色谱条件

色　谱　柱：C18（150 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm）
流　动　相：A 相 -15 mM 乙酸 +10 mM 二戊胺水溶液，B 相 - 甲醇
流　　　速：0.3 mL/min　　柱　　温：40℃
进样体积：5 μL
洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 0%，时间程序见表 1。

表 1　流动相梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	0
10.00	Pumps	Pump B Conc.	10
10.10	Pumps	Pump B Conc.	90
12.00	Pumps	Pump B Conc.	90
12.10	Pumps	Pump B Conc.	10
15.00	Controller	Stop	

质谱条件
离　子　源：ESI（+）　　接口温度：300℃
接口电压：4.5 kV　　DL 温　度：250℃
雾　化　气：氮气 3.0 L/min　　加热块温度：400℃
加　热　气：空气 10.0 L/min　　扫描模式：MRM
干　燥　气：氮气 10.0 L/min　　MRM 参数：见表 2

表 2　MRM 参数

No.	中文名	CAS. No.	离子对	Q1 Pre（V）	CE	Q3 Pre（V）
1	3- 羟基丙醛	2134-29-4	207.0 > 99.1	34.0	25.0	8.0

1.3 标准品配制

标准储备液：准确称取标准品 1 mg，用水溶解并定容至 1 mL，配制浓度为 1000 μg/mL 标准储备液。

标准溶液：取适量标准储备液，用水逐级稀释，浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5 μg/mL

1.4 样品前处理

将样品采用超纯水稀释 10 倍后上机分析。

■ 结果与讨论

2.1 前体离子确定

3- 羟基丙醛分子量为 74 Da，含羟基和醛基，极性较弱，在 ESI 离子源中较难离子化。通过 scan 分析，仅在正模式下找到响应较低的加钠峰，但加钠峰不稳定，且在 CID 中不容易产生二级碎片离子，所以通常不选择加钠峰作为前体离子。通过在流动相中添加乙酸，负模式下采集得到明显的二聚体加乙酸 $[2M+CH_3COO]^-$ 的特征离子峰，m/z 为 207.1，且信号稳定。

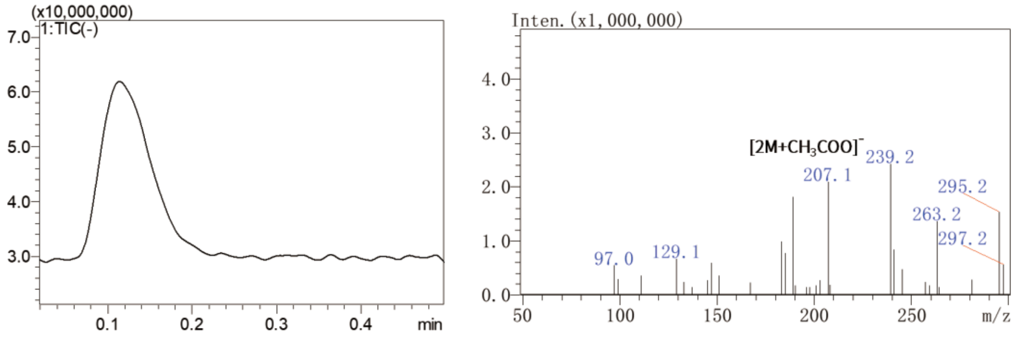

图 1　标准溶液 Scan 模式下采集得到的色谱图和质谱图

2.2 标准溶液 MRM 图

通过软件自动优化得到目标化合物的最佳 MRM 参数，采集标准溶液 MRM 图如图 2 所示。

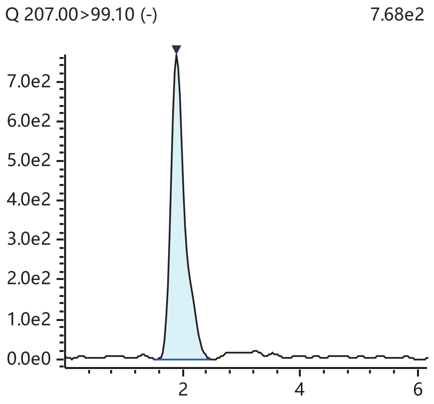

图 2　标准溶液 MRM 图（浓度：0.1 μg/mL）

2.3 校准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线。校准曲线如图 3 所示，线性相关系数大于 0.9998，准确度为 96.8~103.6%。

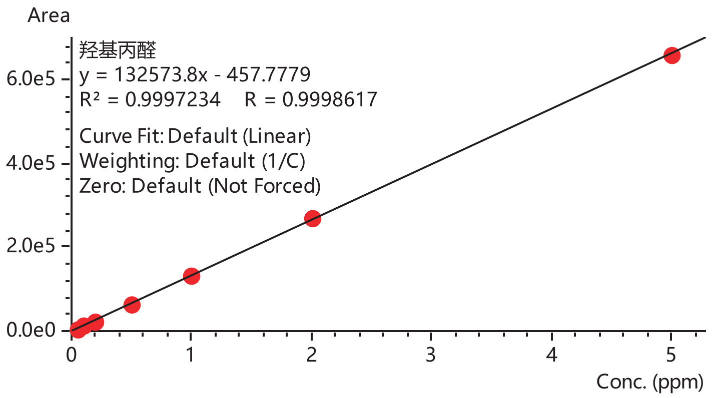

图 3　校准曲线图

2.4 样品测定及加标实验结果

按照 1.4 中样品前处理方法对大肠杆菌发酵液进行处理，上机分析。发酵液成分复杂，易对目标化合物的定量分析造成干扰，影响其含量测定的准确性。为解决这一问题，通过在流动相中添加二戊胺，并优化液相洗脱梯度，提高目标化合物在色谱柱上的保留，成功去除了基质的干扰。经过方法优化，最终样品加标回收率为 90.5%。样品及加标溶液色谱图见图 4，浓度结果见表 3。

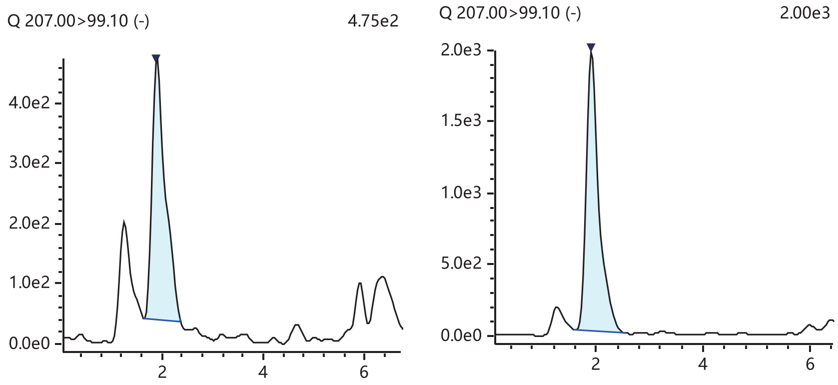

图 4　样品（左）及加标溶液（右）色谱图

表 3　样品浓度及加标回收率结果

化合物名	样品中浓度（μg/mL）	加标量（μg/mL）	加标后浓度（μg/mL）	回收率
3- 羟基丙醛	0.58	1.0	1.43	90.5%

结论

本文通过三重四极杆液质联用仪建立了大肠杆菌发酵液中 3- 羟基丙醛的定量分析方法，此方法分析速度快、灵敏度高、可准确测定发酵液中 3- 羟基丙醛的浓度，为大肠杆菌的基因改造及代谢通路调控提供了支持。

岛津应用云

岛津企业管理（中国）有限公司 –分析中心
Shimadzu (China) Co., LTD. – Analytical Applications Center

Email: dr_jin@shimadzu.com.cn　Tel: 86(21)34193983　http://www.shimadzu.com.cn