

LC-MS/MS 法分析古纺织品中的 18 种氨基酸成分

LCMSMS-858

摘要： 本方法采用 LC-MS/MS 检测古纺织品中 18 种氨基酸成分，在 5~500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内校准曲线线性良好，相关系数均在 0.999 以上。各组分在 5 $\mu\text{g/L}$ 浓度下信噪比均大于 10.0，灵敏度良好。对 10.0 $\mu\text{g/L}$ 和 100.0 $\mu\text{g/L}$ 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，其结果显示重复性良好。此外，20.0 $\mu\text{g/L}$ 和 100.0 $\mu\text{g/L}$ 加标浓度的加标回收率分别为 88.2%-113.9% 和 83.2%-117.0%。该方法简单方便，能够有效的测定古纺织品中氨基酸的含量，进而通过氨基酸含量判断该纺织品的老化程度。

关键词： 三重四极杆液相 - 质谱联用仪 氨基酸 古纺织品

技术特点：

- ❖ 氨基酸分析法扩展到考古新领域，应用于古纺织品老化特征的评估。
- ❖ 使用谷氨酸 -D5 和苯丙氨酸 -D8 内标法定量，提高定量准确性和实验重复性。

天然材质的纺织物自古就是消费者的热选商品类型之一，而通过丝织品的氨基酸含量，可以进一步判断该老化程度。例如，许多古代纺织物是由多种氨基酸成分组成的蚕丝织造而成，蚕丝易受环境影响而老化，导致氨基酸含量的逐步变化。因此，通过对氨基酸成分的分析可以灵敏的检测出纤维中氨基酸成分含量变化情况，从分子的水平上得出丝织物各种老化特征，从而对丝织物的老化程度进行鉴定和评估。

氨基酸液相 - 质谱联用法测定氨基酸含量在食品、饲料等样品有被采用，在纺织类检测实验室则相对较少。目前的检测手段中，更多使用的是柱前衍生，

再经过液相色谱对氨基酸衍生物的测定来得到氨基酸含量。而液相色谱 - 串联质谱法因结合了液相色谱的分离功能和质谱的高选择性、高特异性和高灵敏度等特点，尤其适用于多种目标化合物的筛查和确证分析。

因此，本文参考标准 FZ/T 50049-2020《化学纤维 氨基酸含量试验方法》中的前处理，使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8045，建立了一套快速、准确分析古纺织品中氨基酸成分的检测方法，并用于测定氨基酸的含量。该方法对该行业的适用性强，可为相关行业应用开发提供依据。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A 5R
输液泵：	LC-30AD×2	柱温箱：	CTO-20AC
自动进样器：	SIL-30AC	质谱仪：	LCMS-8045
色谱工作站：	Labsolutions Ver. 5.118		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Supelco Discovery HS F5-3 15 cm×2.1 mm, 3 μm (Col:259997-03)
流动相：A-1% 乙酸水；B- 乙腈

6	谷氨酸	Glu	148.00	*84.20	-10.0	-16.0	-13.0
				130.20	-10.0	-14.0	-12.0
7	脯氨酸	Pro	116.00	56.10	-10.0	-28.0	-21.0
				*70.05	-13.0	-26.0	-22.0
8	丙氨酸	Ala	89.90	42.00	-13.0	-59.0	-12.0
				28.10	-13.0	-40.0	-27.0
9	缬氨酸	Val	118.00	*44.10	-10.0	-13.0	-15.0
				45.00	-10.0	-35.0	-14.0
10	组氨酸	His	156.00	42.10	-10.0	-31.0	-16.0
				*72.15	-13.0	-16.0	-12.0
11	赖氨酸	Lys	147.00	55.15	-13.0	-22.0	-20.0
				*110.05	-11.0	-16.0	-10.0
12	精氨酸	Arg	175.00	83.10	-11.0	-25.0	-12.0
				93.05	-17.0	-23.0	-19.0
13	酪氨酸	Tyr	182.00	*84.10	-10.0	-19.0	-15.0
				130.20	-10.0	-14.0	-12.0
14	异亮氨酸	Ile	132.00	*70.10	-13.0	-24.0	-11.0
				60.10	-13.0	-15.0	-10.0
15	亮氨酸	Leu	132.00	116.10	-20.0	-15.0	-22.0
				*91.20	-12.0	-29.0	-17.0
16	苯丙氨酸	Phe	166.00	136.10	-12.0	-13.0	-12.0
				165.20	-13.0	-11.0	-15.0
17	谷氨酸-D5	GIU-D5	153.00	*86.10	-10.0	-11.0	-17.0
				69.10	-10.0	-17.0	-10.0
18	苯丙氨酸-D8	Phe-D8	174.10	44.05	-25.0	-24.0	-16.0
				*86.20	-26.0	-11.0	-30.0
19	谷氨酸-D5	GIU-D5	153.00	30.10	-10.0	-18.0	-11.0
				44.05	-14.0	-23.0	-16.0
20	苯丙氨酸-D8	Phe-D8	174.10	*120.15	-19.0	-14.0	-26.0
				102.90	-12.0	-26.0	-15.0
21	谷氨酸-D5	GIU-D5	153.00	77.10	-12.0	-39.0	-15.0
				*88.00	-10.0	-16.0	-13.0
22	谷氨酸-D5	GIU-D5	153.00	135.00	-11.0	-12.0	-15.0
				*128.10	-19.0	-14.0	-26.0
23	苯丙氨酸-D8	Phe-D8	174.10	109.00	-12.0	-26.0	-15.0

* 代表定量离子对

■ 样品前处理

准确称取 0.25 g 短纤维置于水解管底部，加入 6 mol/L 的盐酸溶液 15.0 mL，放入冷冻剂（1: 3 水和冰混合）中冷冻 3~5 min，向管内充如高纯氮气，约 2 min 后迅速盖上瓶盖密封，再将水解管置于 110°C 的恒温箱内，水解 22 h 后取出冷却至室温。将水解液过滤并转移至 500 mL 容量瓶内，用水多次冲洗水解管和滤纸上固体残留，合并洗液并定容，混匀。移取 1 mL 滤液于离心管内，置于 50°C 恒温箱内干燥，残留物用 1~2 mL 水溶解，再干燥，反复进行两次，最后完全蒸干。移取 1 mL 初始流动相涡旋振荡充分溶解，经滤膜过滤，上机待测。

■ 结果与讨论

3.1 氨基酸标准溶液谱图

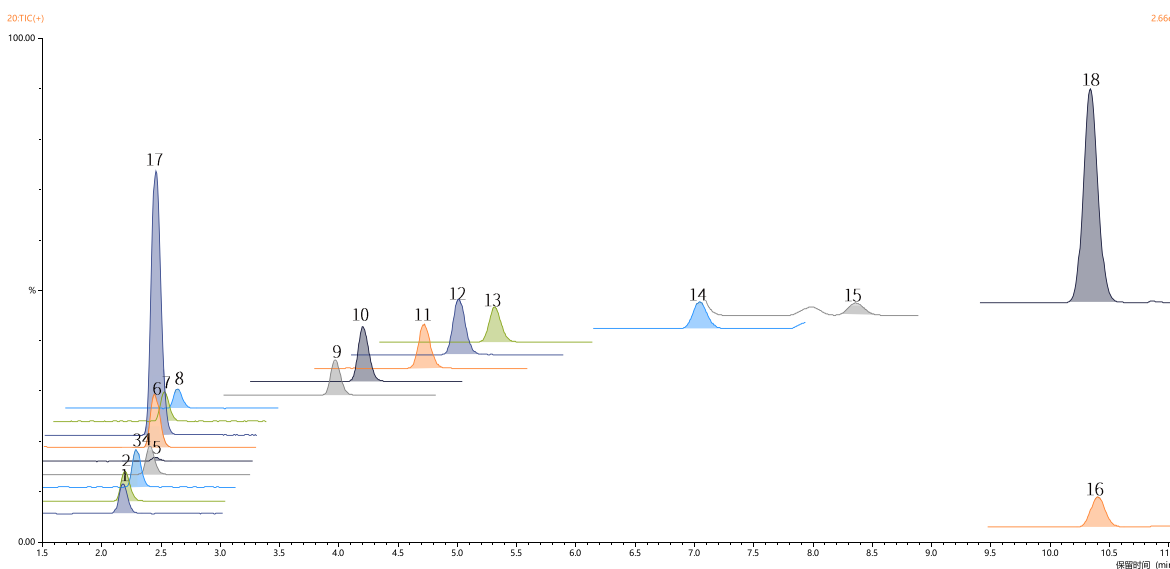
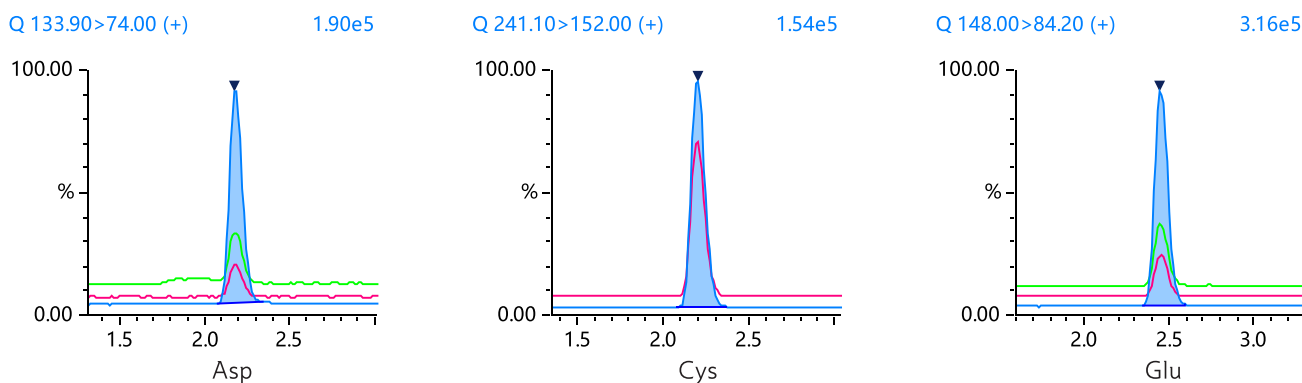


图 1 氨基酸 5.0 µg/L 标准溶液 TIC 图（图中编号见表 2）

3.2 定性色谱图和检出限

对 5 µg/L 的标准溶液进行分析，其结果显示信噪比均大于 10.0。部分 MRM 色谱图如图 2 所示，氨基酸各组分信息如表 3 所示：



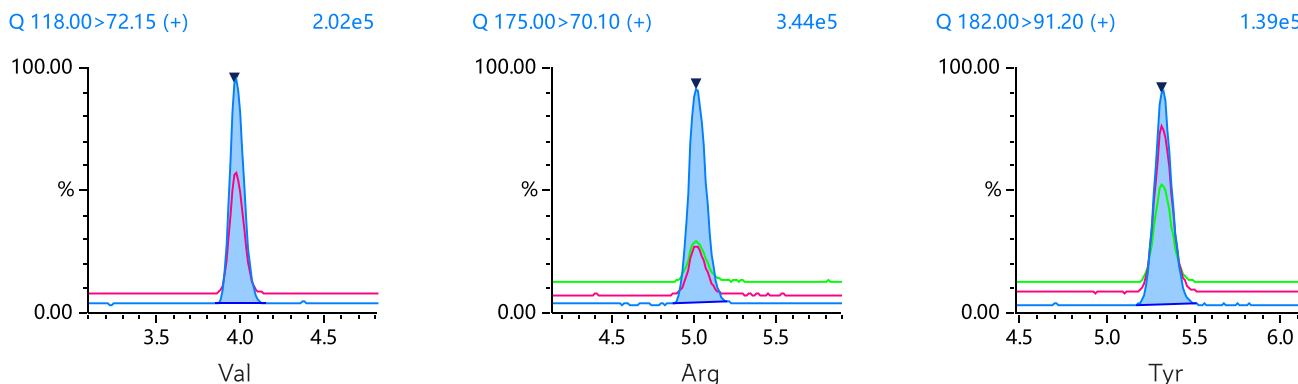


图 2 部分氨基酸标准品溶液 MRM 色谱图 (5.0 µg/L)

表 3 氨基酸各组分信息

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间	S/N 值
1	天冬氨酸	Asp	6899-03-2	2.171	102.12
2	胱氨酸	Cys	56-89-3	2.198	303.57
3	丝氨酸	Ser	302-84-1	2.289	114.85
4	苏氨酸	Thr	72-19-5	2.413	220.90
5	甘氨酸	Gly	56-40-6	2.456	10.87
6	谷氨酸	Glu	56-86-0	2.451	126.42
7	脯氨酸	Pro	609-36-9	2.522	147.49
8	丙氨酸	Ala	338-69-2	2.642	138.12
9	缬氨酸	Val	7004-03-7	3.958	151.47
10	组氨酸	His	71-00-1	4.211	121.03
11	赖氨酸	Lys	56-87-1	4.728	192.22
12	精氨酸	Arg	74-79-3	5.018	146.22
13	酪氨酸	Tyr	70642-86-3	5.308	264.83
14	异亮氨酸	Ile	73-32-5	7.051	177.09
15	亮氨酸	Leu	3588-60-1	7.988	33.51
16	苯丙氨酸	Phe	673-31-4	10.401	56.08

3.3 校准曲线

分别配制 5、10、20、50、100、200、500 µg/L 的氨基酸混合标准溶液，取 2 µL 进样，以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标做校准曲线。结果显示，各成分曲线相关系数均大于 0.999，线性良好。部分化合物校准曲线如图 3 所示，各化合物线性相关系数如表 4 所示：

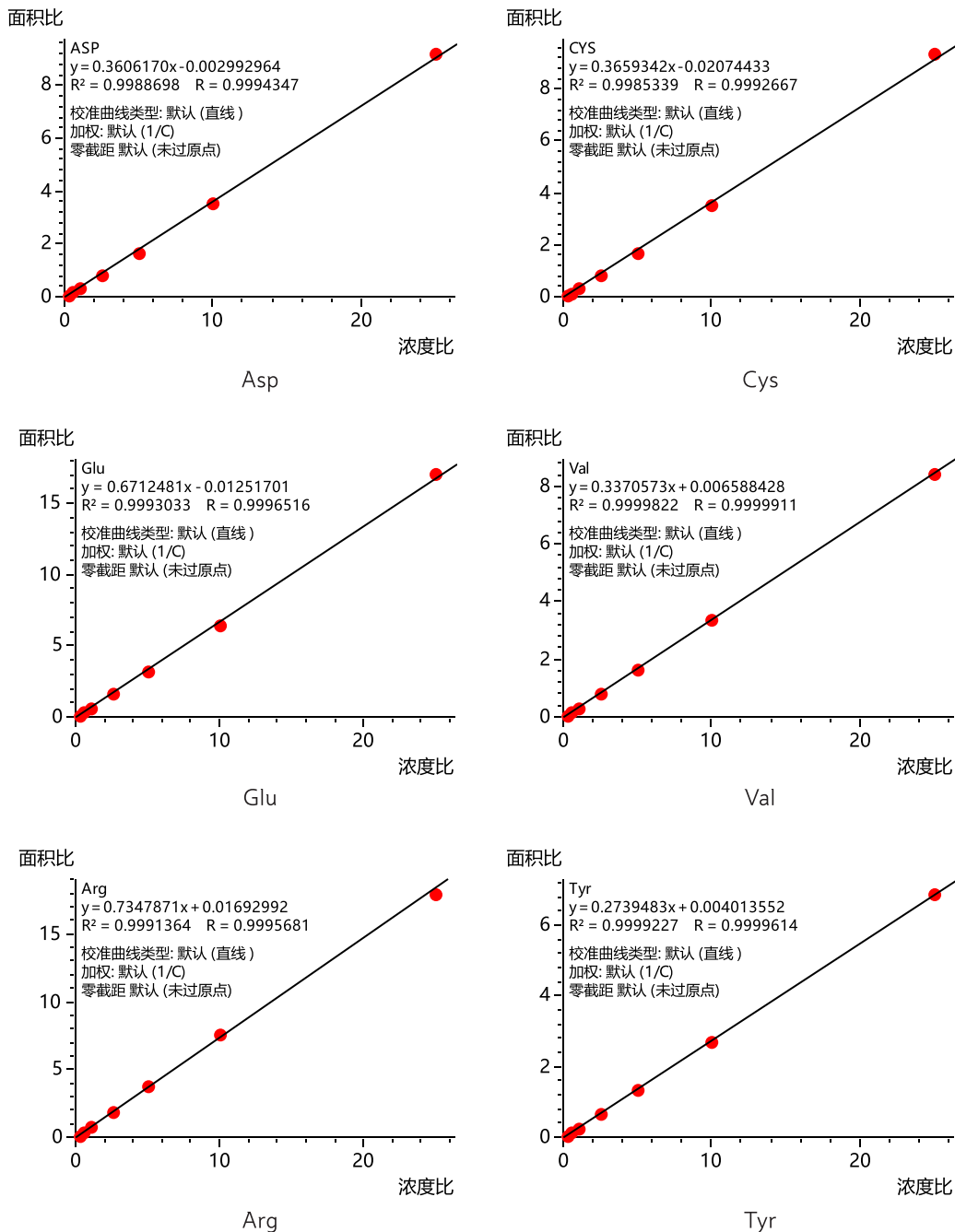


图 3 部分氨基酸校准曲线

表 4 氨基酸曲线结果

序号	组分名称	相关系数 (R)	线性范围 (ng/mL)	精确度 (%)
1	Asp	0.9994	5~500	93.62~108.22
2	Cys	0.9993	5~500	94.08~113.34
3	Ser	0.9994	5~500	93.54~107.31
4	Thr	0.9996	5~500	95.15~109.22

5	Gly	0.9999	5~500	97.27~104.13
6	Glu	0.9997	5~500	96.10~106.38
7	Pro	0.9996	5~500	95.40~110.27
8	Ala	0.9993	5~500	93.66~110.88
9	Val	0.9999	5~500	98.48~101.81
10	His	0.9999	5~500	96.40~101.72
11	Lys	0.9998	5~500	94.75~100.86
12	Arg	0.9996	5~500	88.21~103.67
13	Tyr	0.9996	5~500	98.49~101.64
14	Ile	0.9994	5~500	98.91~101.18
15	Leu	0.9993	5~500	97.77~106.47
16	Phe	0.9998	5~500	97.59~102.99

3.4 重复性实验

取 10.0 µg/L 和 100.0 µg/L 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，其结果显示，峰面积重复性结果分别在 0.46%~3.70% 和 0.31%~2.07% 之间，保留时间重复性结果分别在 0.02%~0.27% 和 0.02%~0.10% 之间，测定结果如表 5 所示：

表 5 氨基酸重复性结果

序号	组分名称	10.0 µg/L 峰面积 RSD (%)	10.0 µg/L RT RSD (%)	100.0 µg/L 峰面积 RSD (%)	100.0 µg/L RT RSD (%)
1	Asp	1.38	0.06	0.61	0.04
2	Cys	0.61	0.07	1.21	0.06
3	Ser	1.34	0.04	0.92	0.05
4	Thr	0.70	0.02	0.69	0.02
5	Gly	3.70	0.27	1.22	0.08
6	Glu	1.06	0.05	0.94	0.03
7	Pro	0.90	0.05	0.97	0.05
8	Ala	1.64	0.04	0.31	0.02
9	Val	0.95	0.08	0.90	0.10
10	His	0.71	0.05	0.62	0.06
11	Lys	0.46	0.07	0.35	0.06
12	Arg	0.83	0.02	0.81	0.03
13	Tyr	0.82	0.10	0.59	0.06
14	Ile	1.11	0.06	0.98	0.04
15	Leu	1.80	0.06	2.07	0.05
16	Phe	0.79	0.05	0.46	0.03

3.5 加标回收率

将基质样本进行 20.0 µg/L 和 100.0 µg/L 浓度加标后，按照上述前处理方法处理后上机，其结果显示，20.0 µg/L 和 100.0 µg/L 加标浓度的加标回收率分别为 88.2%-113.9% 和 83.2%-117.0%，回收率良好。具体结果如表 6 所示：

表 6 各组分加标回收率结果

序号	组分名称	20.0 µg/L 回收率 (%)	100.0 µg/L 回收率 (%)
1	Asp	95.3	106.3
2	Cys	107.6	117.0
3	Ser	101.0	106.9
4	Thr	101.2	104.3
5	Gly	113.9	93.8
6	Glu	88.2	91.6
7	Pro	111.7	86.6
8	Ala	104.8	95.9
9	Val	110.9	97.5
10	His	98.4	93.4
11	Lys	103.8	90.8
12	Arg	97.8	83.2
13	Tyr	94.0	98.0
14	Ile	96.3	95.7
15	Leu	95.8	84.5
16	Phe	89.8	97.5

3.6 实际样本检测结果

对某实际样本经前处理后测试，其结果如表 7 所示，色谱图如图 4 所示：

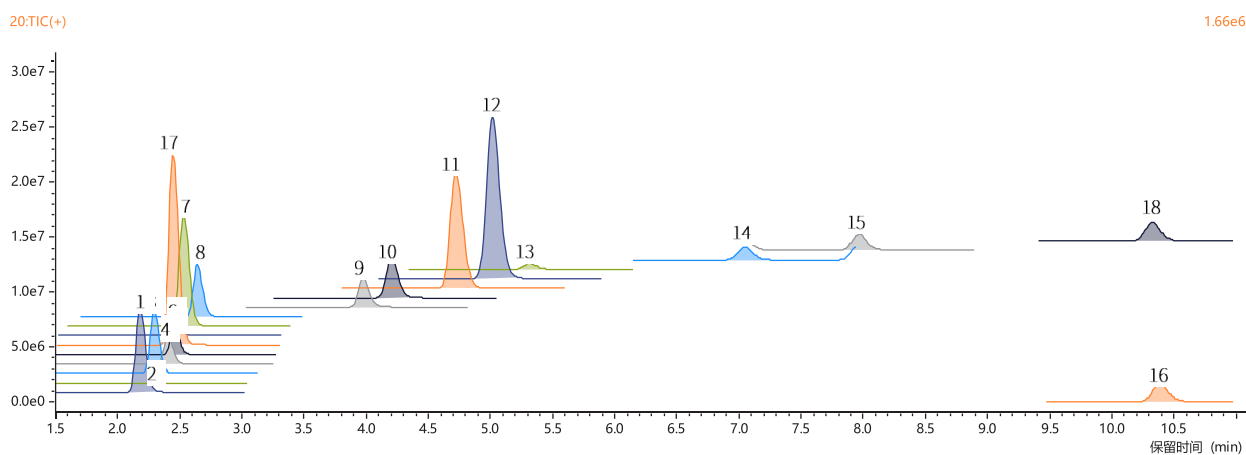


图 4 样本检测结果色谱图（图中编号见表 2）

表 7 实际样本检测结果

序号	组分名称	检测结果 (mg/L)	实际浓度 (mg/g)	序号	组分名称	检测结果 (mg/L)	实际浓度 (mg/g)
1	Asp	23.06	46.12	9	Val	5.18	10.36
2	Cys	0.13	0.26	10	His	4.57	9.14
3	Ser	17.14	34.28	11	Lys	15.75	31.5
4	Thr	7.26	14.52	12	Arg	16.95	33.9
5	Gly	60.10	120.2	13	Tyr	1.02	2.04
6	Glu	27.83	55.66	14	Ile	2.74	5.48
7	Pro	27.95	55.9	15	Leu	6.20	12.4
8	Ala	21.25	21.25	16	Phe	3.45	3.45

■ 结论

本文利用岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045，建立了古纺织品中氨基酸成分的分析方法。样本参考标准 FZ/T 50049-2020《化学纤维 氨基酸含量试验方法》前处理，使用液相色谱 - 串联质谱进行氨基酸内标法定量分析。根据各成分的保留时间、定性离子进行定性检验，并基于选定的定量离子对采用 MRM 模式进行定量分析。此外，采用基质加标的方式，对该方法的回收率进行考察，其结果显示，回收率表现良好。本方法适用于古纺织品中氨基酸成分的测定，也可为相关从业人员分析检测提供参考。

岛津应用云

