

电喷雾萃取电离质谱直接测定啤酒中多种氨基酸

胡 斌, 杨水平, 丁健桦, 李建强, 陈焕文

(东华理工大学应化系, 江西 抚州 344000)

Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Direct Detection of Amino Acids in Beer

HU Bin, YANG Shui-ping, DING Jian-hua, LI Jian-qiang, CHEN Huan-wen

(Applied Chemistry Department, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China)

Abstract: A novel method was developed for directly detection of amino acids in beer by using extractive electrospray ionization mass spectrometry (EESI-MS) without any sample pretreatment. Taking the advantage of multiple-stage tandem MS capability of an ion trap mass analyzer, all the signals detected from beer samples were quickly identified using their characteristic fragments, resulting in confident validation of the analytical results. The average time for a single sample analysis was less than 0.5 min, and the relative standard deviations of the method were in the range of 5.0%-10.0%. The limit of determination of this method was found to be 10^{-10} g·mL⁻¹ for most amino acids.

Key words: extractive electrospray ionization; mass spectrometry; amino acid; beer; rapid analysis

中图分类号: O 657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997 (2008) 增刊-133-02

啤酒含有多种氨基酸, 对啤酒的口感和品质也有着一定的决定性作用, 因此对发酵过程中氨基酸的变化以及对最终产品啤酒中氨基酸的种类和含量的准确快速分析具有重要意义。电喷雾萃取电离质谱技术可以在无需样品预处理的情况下对啤酒中氨基酸的含量和种类进行快速检测, 可避免样品被任何化学物质污染从而实现啤酒中氨基酸的快速检测。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

EESI源: 本实验室自制^[1-2]; LTQ-XL型线性离子阱质谱仪: 美国 Finnigan 公司产品, 配有 Xcalibur 数据处理系统。半胱氨酸、亮氨酸、脯氨酸、天冬氨酸、组氨酸、缬氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、甘氨酸、赖氨酸、丙氨酸、谷氨酸等, 甲醇: 国药集团化学试剂有限公司产品; 实验用水为二次蒸馏水; 啤酒购于市场。

实验时将 20 种氨基酸用二次蒸馏水分别配制成 $0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的储备液, 经逐级稀释至 $1.0 \times 10^{-6} \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 工作液, 备用。

1.2 质谱条件

设置 EESI-MS 为正离子检测模式; 喷雾气压力 1.4 MPa; 毛细管电压 4.0 kV; 离子传输管温度 220 °C; 喷雾溶剂流速 $5 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$; 质谱入口与样品表面的距离 5 mm; 喷雾针尖与进样喷雾管道针尖距离 4 mm; 喷雾针与进样喷雾管道针角度 (α): 90°; 其他条件由系统自动优化。

2 结果与讨论

2.1 定性分析

在正离子检测模式下,使用 EESI-MS 进样,先用标准氨基酸进样获得二级质谱碎片的标准谱图。同样条件下测定啤酒样品,啤酒中氨基酸的分子离子峰均为 $[M+H]^+$ 峰,其质谱断裂方式也基本类似,在二级质谱碎片中易产生脱去 $[M-COOH]^+$ 、 $[M+H-H_2O]^+$ 、 $[M+H-NH_2]^+$ 等特征碎片离子。啤酒中有和标准氨基酸溶液相同的二级质谱图进行定性分析,结果列于表 1。

2.2 定量分析

分别把 0.1、0.5、1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的氨基酸标准溶液进样,进样 3 次,进样后分别测定各种浓度的 6 种标准氨基酸溶液的离子流图的峰面积,然后以氨基酸的离子流图的峰面积与浓度作图,得到校正曲线和线性方程,列于表 2。在同样的条件下,分别把不同的 4 种啤酒样品进样,同样进样 3 次,进样后测定啤酒中各氨基酸组分的离子流图的峰面积,由于氨基酸离子流图的峰面积与其浓度成正比关系,故可以求出啤酒中各氨基酸的浓度,从而进行定量分析。

表 1 啤酒中部分氨基酸的定性分析

Table 1 Qualitative analysis amino acids in the beer sample

啤酒	黑啤	超爽	纯爽	青岛
丝氨酸	×	×	×	×
脯氨酸	√	√	√	√
缬氨酸	√	×	×	√
苏氨酸	×	×	×	×
异亮氨酸	√	√	×	√
赖氨酸	×	√	×	×

注: ×表示未检出; √表示存在

表 2 部分氨基酸的线性方程

Table 2 Linear equation of amino acids in the beer sample

标准溶液名称	线性回归方程	相关系数
丝氨酸	$Y=2\ 116+633X$	0.998
缬氨酸	$Y=43\ 911+61\ 066X$	0.999
苏氨酸	$Y=1\ 466+9\ 009X$	0.997
异亮氨酸	$Y=27\ 763+76\ 819X$	0.999
脯氨酸	$Y=1\ 665+7\ 720X$	0.993
赖氨酸	$Y=3\ 209+13\ 396X$	0.998

注: X 表示氨基酸溶液的浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$); Y 表示离子流图的峰面积

3 结论

实验研究表明, EESI-MS 能够在无需任何预处理的条件下对不同啤酒中的多种氨基酸进行快速定性分析和准确定量分析。

参考文献:

- [1] CHEN H W, ZENOBI R. Neutral desorption sampling of biological surfaces for rapid chemical characterization by extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. Nature Protocols, 2008, 3(9): 1 467-1 475.
- [2] CHEN H W, WORTMANN A, ZHANG W H, et al. Rapid in vivo fingerprinting of nonvolatile compounds in breath by extractive electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Angew Chem Int Ed, 2007, 46: 580-583.