

## LC-MS/MS法检测19种有机酸应用解决方案

### The Application Solution for Determination of 19 Organic Acids by LC-MS/MS Method

李志远<sup>1</sup>, 秦磊<sup>2</sup>, 刘冰洁<sup>1</sup>, 李立军<sup>1</sup>, 郭立海<sup>1</sup>  
Li Zhiyuan<sup>1</sup>, Qin Lei<sup>2</sup>, Liu Bingjie<sup>1</sup>, Li Lijun<sup>1</sup>, Guo Lihai<sup>1</sup>

SCIEX China<sup>1</sup>

大连工业大学, 国家海洋食品工程技术研究中心<sup>2</sup>

Dalian Polytechnic University, National Engineering Research Center of Seafood<sup>2</sup>

**Key Words:** LC-MS/MS, MRM, organic acids, foodomics, metabolomics

#### 简介

LC-MS/MS法检测有机酸类化合物一直以来都是客户关心的重点和难点, 主要是因为有机酸类化合物在LC-MS/MS适合的反向色谱体系中, 其色谱峰形、色谱保留等一直存在问题(如下图1所示), 目前, 无论是常规C18色谱柱还是HILIC色谱柱都无法兼顾大多数有机酸类化合物的检测需求, 且简易性、重复性均表现不佳。本文旨在建立一种简单、快速的LC-MS/MS法检测有机酸类化合物, 目的是应用在食品组学、代谢组学等实际样品检测中。

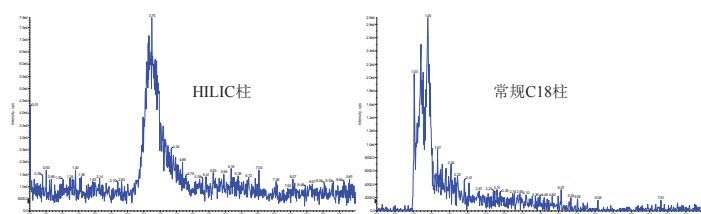


图1. 柠檬酸在常规C18色谱柱和HILIC柱色谱图。

#### 仪器设备:

ExionLC™ 液相系统

SCIEX Triple Quad™ 质谱系统



#### 色谱条件:

色谱柱	Torus™ DEA Column, 1.7 μm, 2.1 × 100 mm
流动相A	乙腈
流动相B	50 mM碳酸铵
等度洗脱	85%B
流速	0.5 mL/min
柱温	40 °C
进样量	20 μL

#### 质谱条件:

扫描模式	负离子
离子源	ESI
CUR	25 psi
IS	-1500 V
TEM	650 °C
GS1	65 psi
GS2	60 psi

MRM离子对信息如下:

NO.	Q1 Mass (Da)	Q3 Mass (Da)	ID	DP	CE
1	137	92.9	水杨酸	-51	-30
2	114.9	70.9	富马酸/顺丁烯二酸*	-34	-12
3	87	32.1	丙酮酸	-50	-12
4	102.9	58.9	丙二酸	-24	-11
5	144.9	81.2	己二酸	-60	-25
6	172.9	92.9	莽草酸	-63	-18
7	117	73	丁二酸	-25	-15
8	144.9	72.9	α-酮戊二酸	-27	-16
9	172.9	84.9	顺式-乌头酸	-20	-16
10	133	114.9	苹果酸	-40	-15
11	148.9	86.9	酒石酸	-40	-15
12	192.8	102.9	半乳糖醛酸	-50	-14
13	194.9	128.9	葡萄糖酸	-68	-18
14	130.8	87	草酰乙酸	-30	-9
15	88.9	61	草酸	-45	-10
16	167	124.3	尿酸	-60	-20
17	190.9	84.9	奎宁酸	-70	-26
18	190.9	111	柠檬酸	-40	-18
19	190.9	111	异柠檬酸	-40	-18

\*注:该方法富马酸和顺丁烯二酸为同分异构体,且不能色谱分离,定量和定性只能给出总量信息。

## 实验结果:

### 1. 19种有机酸MRM典型色谱图:

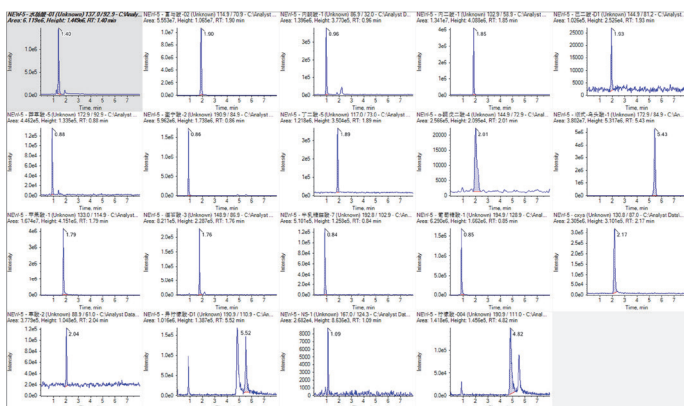


图2. 19种有机酸典型色谱图 (100 ng/mL)。

### 2. 实际样品检测结果:

#### 2.1 样品前处理过程如下:

- 1) 分别称取5 g的苹果、梨、蓝莓样品,经过10 mL乙腈提取后,高速离心,取上清液进样。如因样品浓度太高需要稀释,则采用80%水进行后进样分析。
- 2) 取人空白血浆100 μL加入400 μL乙腈沉淀后,高速离心,取上清液进样分析。
- 3) 称取2 g鱼肉样品,分别加入2.5 mL水、3 mL冷甲醇,冰水匀浆后,加入10 mL冷甲基叔丁基醚,漩涡震荡2 min,离心10 min,取下层250 μL再加入750 μL甲醇/异丙醇(1:1),旋涡30 s,静止10 min(4℃),高速离心2 min后,取20 μL上清液液体氮气吹干燥,200 μL纯水复溶进样分析。

#### 2.2 实际样品检出情况总结,见表1(实际样品色谱图见图3)。

表1. 19种有机酸在5种不同基质样品中的检出情况汇总。

编号	化合物名称	样品名称				
		苹果	梨	蓝莓	血浆	鱼肉
1	水杨酸	✓	✓	✓	-	✓
2	富马酸/顺丁烯二酸	✓	✓	✓	✓	✓
3	丙酮酸	✓	✓	-	✓	✓
4	丙二酸	✓	✓	✓	✓	✓
5	己二酸	✓	✓	✓	-	-
6	莽草酸	✓	✓	-	-	-
7	丁二酸	✓	✓	-	✓	✓
8	α-酮戊二酸	-	-	-	-	-
9	顺式-乌头酸	✓	✓	✓	✓	✓
10	苹果酸	✓	✓	✓	✓	✓
11	酒石酸	✓	✓	-	✓	✓
12	半乳糖醛酸	✓	✓	✓	✓	✓
13	葡萄糖酸	✓	✓	✓	✓	✓
14	草酰乙酸	-	-	-	-	-
15	草酸	✓	✓	✓	✓	✓
16	尿酸	-	-	-	✓	-
17	奎宁酸	✓	✓	✓	-	-
18	柠檬酸	✓	✓	✓	✓	-
19	异柠檬酸	-	-	-	-	-

注:“✓”为有检出;“-”为未检出。

### 3. 实际样品色谱图如下:

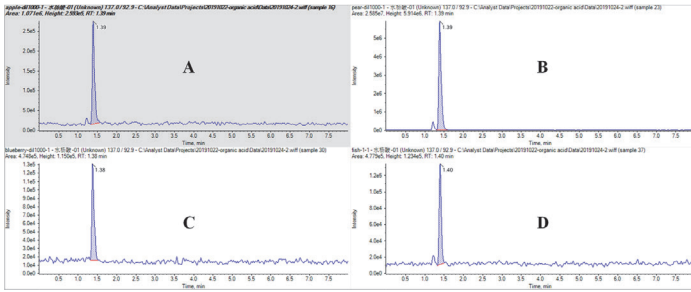


图3-1. 水杨酸实际样品色谱图 (A为苹果样品稀释1000倍; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为鱼肉样品)。

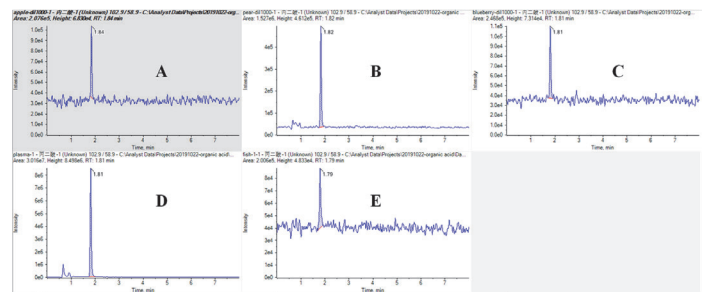


图3-4. 丙二酸实际样品色谱图 (A为苹果样品稀释1000倍; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为血浆样品; E为鱼肉样品)。

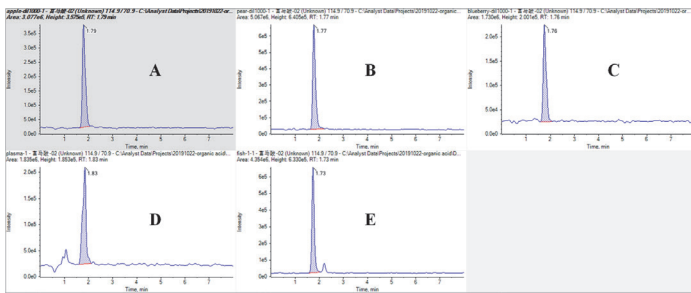


图3-2. 富马酸和顺丁烯二酸实际样品色谱图 (A为苹果样品稀释1000倍; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为血浆样品; E为鱼肉样品)。

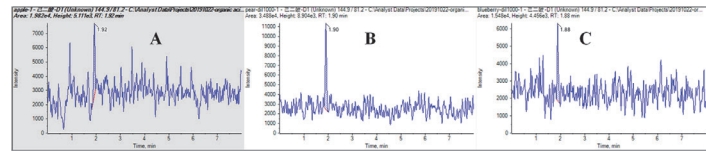


图3-5. 己二酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍)。

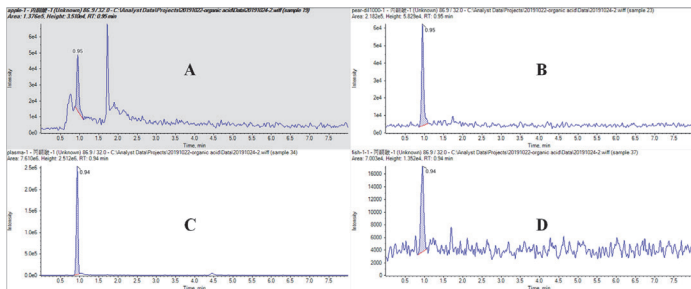


图3-3. 丙酮酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品稀释1000倍; C为血浆样品; D为鱼肉样品)。

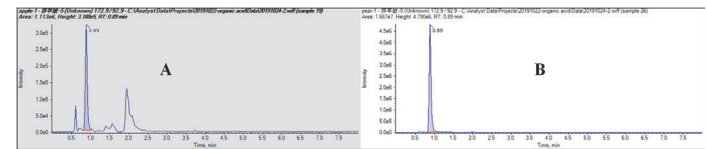


图3-6. 莽草酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品)。

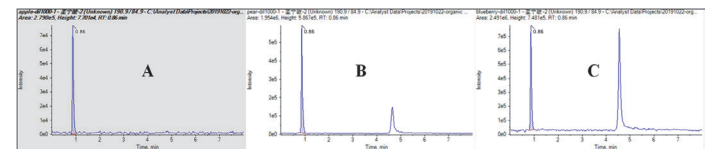


图3-7. 奎宁酸实际样品色谱图 (A为苹果样品稀释1000倍; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍)。

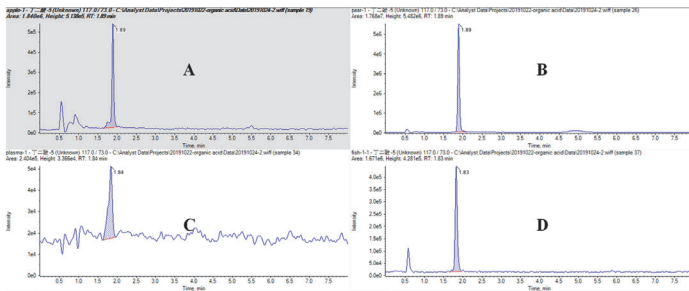


图3-8. 丁二酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品; C为血浆样品; D为鱼肉样品)。

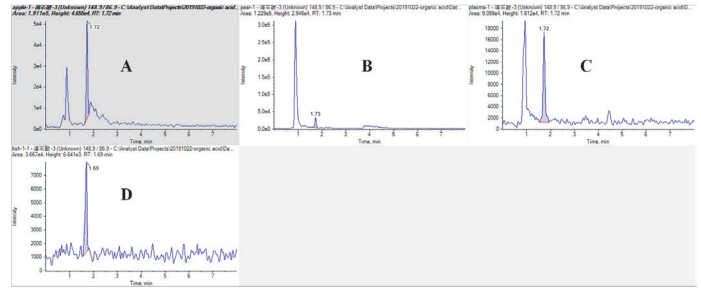


图3-11. 酒石酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品; C为血浆样品; D为鱼肉样品)。

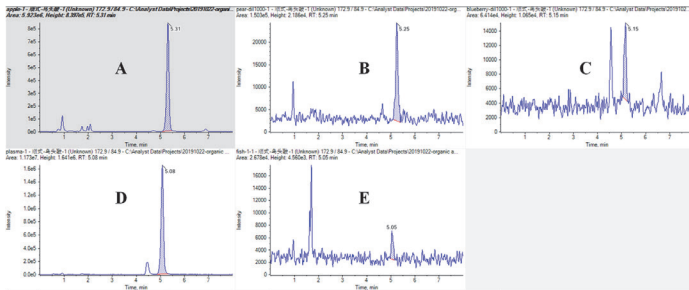


图3-9. 顺式-乌头酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为血浆样品; E为鱼肉样品)。

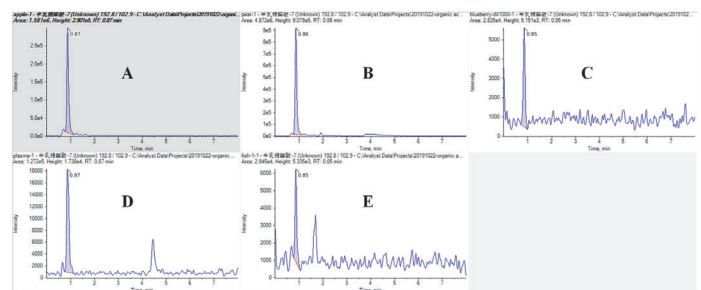


图3-12. 半乳糖醛酸实际样品色谱图 (A为苹果样品; B为梨样品; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为血浆样品; E为鱼肉样品)。

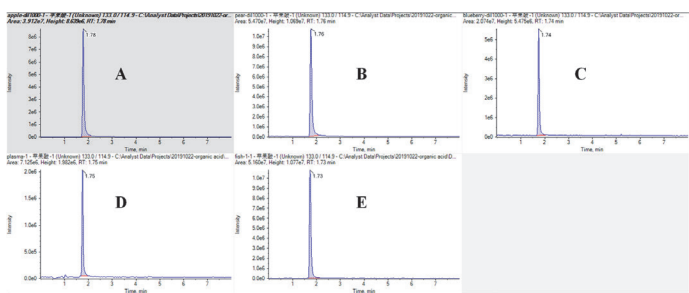


图3-10. 苹果酸实际样品色谱图 (A为苹果样品稀释1000倍; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为血浆样品; E为鱼肉样品)。

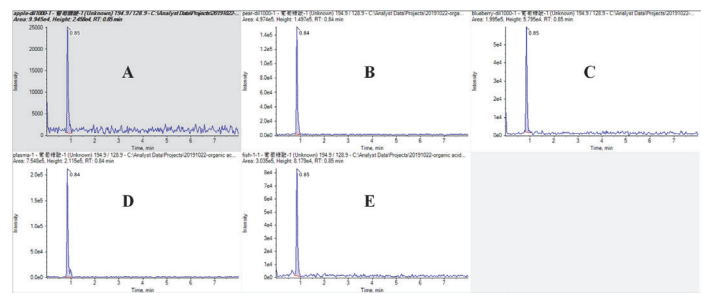


图3-13. 葡萄糖酸实际样品色谱图 (A为苹果样品稀释1000倍; B为梨样品稀释1000倍; C为蓝莓样品稀释1000倍; D为血浆样品; E为鱼肉样品)。

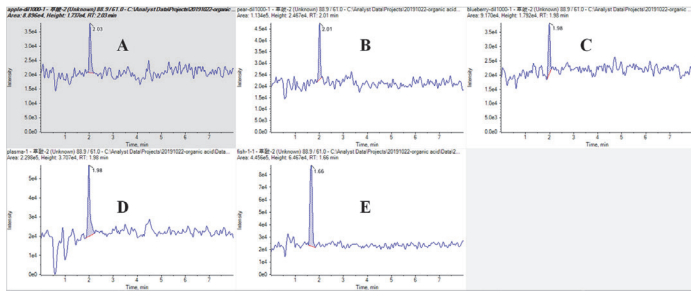


图3-14. 草酸实际样品色谱图（A为苹果样品稀释1000倍；B为梨样品稀释100倍；C为蓝莓样品稀释1000倍；D为血浆样品；E为鱼肉样品）。

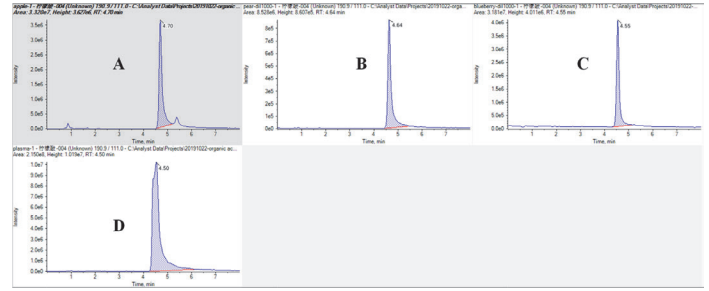


图3-16. 柠檬酸实际样品色谱图（A为苹果样品；B为梨样品稀释1000倍；C为蓝莓样品稀释1000倍；D为血浆样品）。

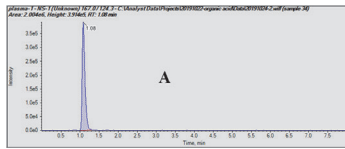


图3-15. 尿酸实际样品色谱图（A为血浆样品）。

## 总结：

本文目的在于在SCIEX Triple Quad™ 质谱系统平台上建立一个19种有机酸的LC-MS/MS分析方法，数据表明此19种有机酸的保留行为和色谱峰形均表现优异，该方法简单、快速、重复性好，实际样品的检测表明该方法可以被应用在食品组学、代谢组学等样品的检测中。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。

获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅 <https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。

本文提及的商标和/或注册商标的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。AB SCIEX™ 商标经许可使用。

© 2019 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MKT-02-10669-ZH-A



### SCIEX中国公司

北京分公司  
地址：北京市朝阳区酒仙桥中路24号院  
1号楼5层  
电话：010-5808 1388  
传真：010-5808 1390

上海公司及中国区应用支持中心  
地址：上海市长宁区福泉北路518号  
1座502室  
电话：021-2419 7200  
传真：021-2419 7333

广州分公司  
地址：广州市天河区珠江西路15号  
珠江城1907室  
电话：020-8510 0200  
传真：020-3876 0835

全国免费垂询电话：800 820 3488, 400 821 3897 网址：sciex.com.cn 官方微信：ABSciex-China