

LC-MS/MS 法测定婴幼儿奶粉中维生素 K1 含量

LCMSMS-692

摘要：本文参照 GB 5009.158-2016《食品安全国家标准 食品中维生素 K1 的测定》，建立了婴幼儿奶粉中维生素 K1 含量测定的方法。在优化后的色谱及质谱条件下，采用正离子模式扫描，通过多反应监测模式对目标化合物进行测定。结果表明：维生素 K1 在 2 ~ 1000 ng/mL 的范围内线性良好，所得校准曲线相关系数在 0.9974 以上，各校准点准确度在 91.89%~109.15% 之间，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05% 和 3.76% 以内，加标回收率在 107.2%~109.5% 之间。

关键词：LC-MS/MS 维生素 K1 婴幼儿奶粉 内标法

维生素 K1，又名植物甲萘醌、叶绿醌，化学名称为 2- 甲基 -3- 植醇基 -1,4- 萘醌，是一种多环芳香酮，也是一种脂溶性维生素，对空气和潮湿稳定，但在阳光下会被分解。维生素 K1 是肝脏合成凝血因子 II、VII、IX、X 所必须的物质，能促进血液凝固，当其缺乏时可引起这些凝血因子合成障碍或异常。目前，维生素 K1 的检测方法主要有 HPLC- 荧光检

测法、HPLC- 紫外检测法和 LC-MS/MS 法。

本文采用岛津三重四极杆液质联用仪，参照 GB 5009.158-2016《食品安全国家标准 食品中维生素 K1 的测定》第二法，对婴幼儿奶粉中的维生素 K1 进行测定，本方法灵敏度高、重现性好，可为食品行业相关人员提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用系统。配置信息如下：

系统控制器：SCL-40

输液泵：LC-40B X3

自动进样器：SIL-40C X3

柱温箱：CTO-40C

质谱：LCMS-8050

工作站：Labsolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

1.2.1 液相条件

色谱柱：Shim-pack XR-ODS III 50 mm×2.0 mm I.D., 1.6 μm;

岛津（上海）实验器材有限公司；P/N：228-59922-91

流动相：甲醇（含 0.025% 甲酸 +2.5 mmol/L 甲酸铵）

流速：0.3 mL/min

进样量：1 μL

柱温：30°C

1.2.2 质谱条件

分析仪器：LCMS-8050

接口温度：300°C

离子源：ESI (+)

DL 温度：150°C

雾化气流速：3.0 L/min

加热模块温度：400°C

干燥气流速：10.0 L/min

扫描模式：多反应监测 (MRM)

加热气流速：10.0 L/min

MRM 参数：见表 1

表 1 MRM 参数

序号	目标物	英文名称	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	维生素 K1	Vitamin K1	84-80-0	451.3	187.1*	-10	-25	-18
					227.1	-16	-26	-22
2	维生素 K1-D ₇	Vitamin K1-d7	1233937-39-7	458.3	194.1*	-16	-26	-40
					178.1	-16	-42	-18

注：* 表示定量离子对

1.3 混合标准工作溶液的制备

参照 GB 5009.158-2016《食品安全国家标准 食品中维生素 K1 的测定》，采用甲醇将维生素 K1 和维生素 K1-D₇ 标准品先后溶解、稀释，最终得到浓度分别为 2.00 ng/mL、5.00 ng/mL、20.0 ng/mL、50.0 ng/mL、500 ng/mL 和 1000 ng/mL 的维生素 K1，浓度为 50.00 ng/mL 的维生素 K1-D₇ 标准工作溶液。

■ 样品前处理

样品前处理参照 GB 5009.158-2016《食品安全国家标准 食品中维生素 K1 的测定》第二法。

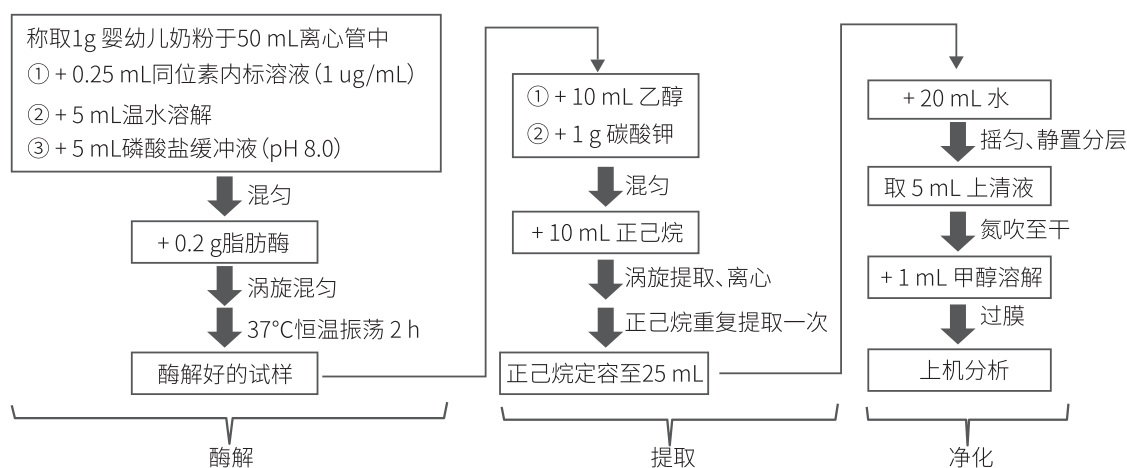


图 1 婴幼儿奶粉样品提取流程图

■ 结果与讨论

3.1 MRM 色谱图

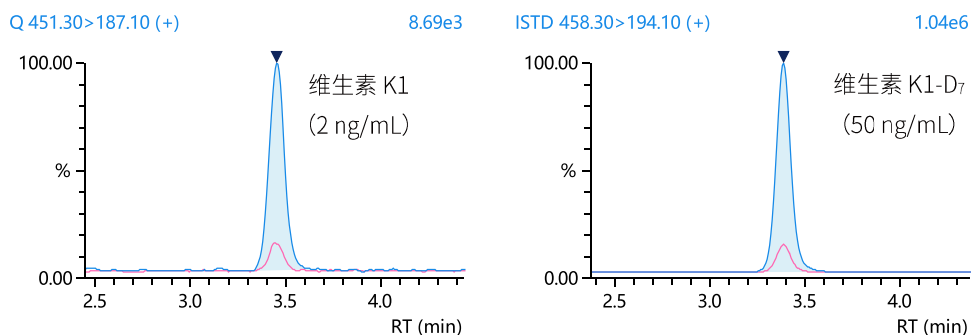


图 2 标准溶液 MRM 色谱图

3.2 校准曲线、检出限及定量限

将“1.3 混合标准工作溶液”按“1.2 分析条件”进行测定，使用内标法定量。以待测物定量离子与内标物定量离子峰面积比为纵坐标，对应的浓度比值为横坐标，绘制校准曲线，如图 3 所示。所得校准曲线相关系数大于 0.9974，准确度在 91.89%~109.15% 之间，Labsolutions 软件依据信噪比自动计算检出限 (S/N=3) 及定量限 (S/N=10)。线性方程、检出限及定量限结果见表 2。

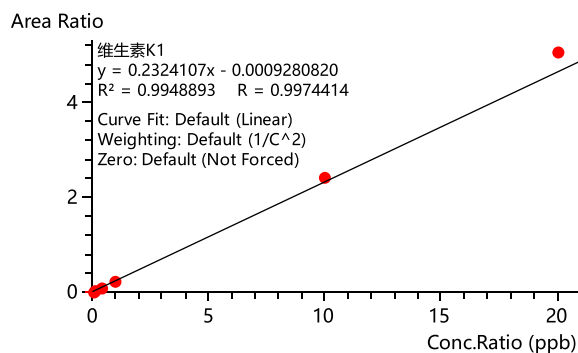


图 3 校准曲线

表 2 线性方程、检出限及定量限

目标物	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
维生素 K1	$Y = 0.2324107X - 0.000928082$	0.9974	91.89~109.15	0.08	0.25

3.3 精密度结果

采用标准工作溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度。结果如表 3 所示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.05% 和 3.76% 以内，显示仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积精密度结果 (n=6)

目标物	理论浓度 (ng/mL)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
维生素 K1	2	0.05	3.67
	20	0.03	3.76

3.4 加标回收率

准确称取某品牌婴幼儿奶粉样品，按照“2. 样品前处理”项下进行酶解、提取和净化，然后上机测试。根据测得结果，样品中维生素 K1 的含量为 95.65 $\mu\text{g}/100\text{g}$ 。向样品中加入低、中和高三个浓度的维生素 K1 的标准溶液，按照“2. 样品前处理”方法处理后上机分析，加标回收率结果见表 4。结果显示：不同加标浓度下，维生素 K1 加标回收率在 107.2%~109.5% 之间。

表 4 加标回收率结果 (n=3)

目标物	样本浓度 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	添加浓度 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	实测浓度 ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	平均回收率 (%)	RSD (%)
维生素 K1	95.65	40	139.46	109.5	2.00
	95.65	80	182.37	108.4	4.41
	95.65	120	224.35	107.2	3.05

3.5 样品测定结果

取市售某品牌婴幼儿奶粉样品 1 g，每批次 6 样品，按照“2. 样品前处理”方法处理及“1.2 分析条件”进行测定，回算后的婴幼儿奶粉中维生素 K1 含量结果见表 5。

表 5 样品测定结果 ($\mu\text{g}/100\text{ g}$, $n=6$)

目标物	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD (%)
维生素 K1	93.34	97.97	97.30	93.59	95.82	95.87	95.65	1.97

■ 结论

本应用采用岛津三重四极杆液质联用仪，参照 GB 5009.158-2016《食品安全国家标准 食品中维生素 K1 的测定》，建立了婴幼儿奶粉中维生素 K1 含量测定的方法，本方法灵敏度较高、重现性较好，可为食品行业相关人员提供参考。

岛津应用云

