

使用三重四极杆质谱仪同时分析饮料中的脂溶性维生素

前岛 希

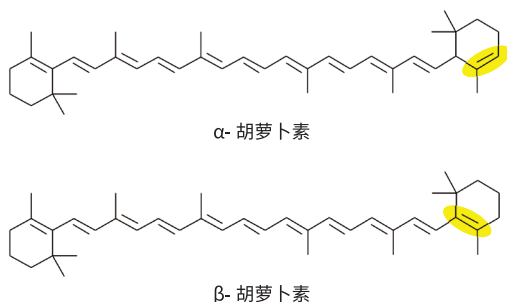
特点描述

- ◆ 可快速同时分析 13 种脂溶性维生素化合物（维生素 A、D、E 和 K）。
- ◆ 可使用三重四极杆质谱仪进行高灵敏度分析。
- ◆ 可分别对 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素进行定量。

简介

维生素在维持正常的身体机能方面具有重要作用，但几乎不能在体内合成，需要通过食物摄取。其中，维生素 A、D、E、K 不能溶于水，因此，被称为脂溶性维生素。维生素 A 主要是指视黄醇。视黄醇具有保护眼睛和皮肤健康，增强抵抗力的作用。另一方面， α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素在体内被转换成视黄醇，因此，被称为维生素 A 原。二者转换为视黄醇的效率不同， α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素的生物利用率分别为视黄醇的 1/24、1/12¹⁾。在评估维生素 A 的活性时，需要分别对 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素进行定量。二者属于异构体，结构非常相似（图 1），过去使用 LC-MS/MS 分析难以进行分离。

本文介绍通过优化 LC 条件，实现对多种脂溶性维生素包括 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素同时定量。使用本方法对蔬菜汁中的 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素分别进行定量，同时进行了加标回收试验。由于 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素不存在酯类结构，因此，可以省略预处理中的皂化处理。可通过简单的萃取操作获得良好的回收率。


 图 1 α -胡萝卜素和 β -胡萝卜素的结构

预处理和分析条件

取市售的蔬菜汁 1 g，加入无水硫酸钠 5 g。然后加入乙醇并振荡 5 分钟，混匀，以 4,000xg 离心 5 分钟，回收上清液。对剩余的残渣再次重复两次上述萃取处理。合并回收的上清液，用乙醇定容至 40 mL。用乙醇将萃取液稀释 100 倍后，以 15,000 rpm 离心 10 分钟，将上清液作为萃取样品。

使用三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 和超高效液相色谱分析仪 Nexera™X3 的组合系统进行分析。LC-MS/MS 分析条件和 MRM 条件如表 1、表 2 所示。

表 1 LC-MS/MS 分析条件

[HPLC 条件] (Nexera X3)	
色谱柱	: Kinetex XB-C18 (100 mm × 3.0 mm I.D., 1.7 μ m)
流动相 A	: 甲醇
流动相 B	: 乙醇
流速	: 0.5 mL/min
梯度程序	: B 浓度 15% (0-7 min) -100% (7.01-12 min) -15% (12.01-14 min)
柱温	: 40°C
进样量	: 5 μ L
[MS 的条件] (LCMS-8050)	
离子化	: APCI
雾化气流速	: 3 L/min
干燥气流速	: 10 L/min
DL 温度	: 200°C
接口温度	: 300°C
加热块温度	: 200°C

表 2 MRM 条件

化合物	保留时间 (min)	极性	过渡	CE (V)
视黄醇	1.16	+	269.20>77.10	-53
α -胡萝卜素	6.35	+	537.45>123.15	-21
β -胡萝卜素	6.71	+	537.45>119.10	-39
β -隐黄素	2.57	+	553.45>119.00	-33
麦角钙化醇	1.75	+	397.35>069.00	-24
胆钙化醇	1.80	+	385.35>259.20	-14
α -生育酚	1.98	-	429.30>163.10	-30
β , γ -生育酚	1.81	-	415.35>149.10	-27
δ -生育酚	1.66	-	401.25>135.00	-30
叶绿醌 (维生素 K1)	2.96	+	451.45>187.10	-27
甲萘醌 -4	2.03	+	445.40>187.10	-22
甲萘醌 -7	5.94	+	649.60>187.10	-30



Nexera™ X3 和 LCMS™-8050

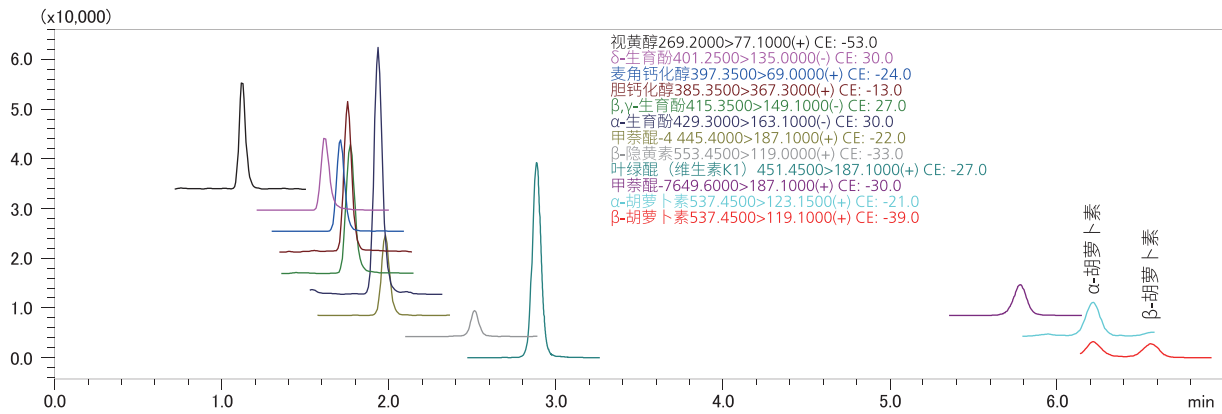


图2 同时分析 13 种脂溶性维生素化合物

同时分析 13 种脂溶性维生素成分

13 种脂溶性维生素成分的标准溶液定量范围和重现性结果如表 3 所示，MS 色谱图如图 2 所示。另外，α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的校准曲线如图 3 所示。可进行高精度、大范围的定量。

表 3 定量范围和重现性

化合物	定量范围 (ng/mL)	重复性 (% , N=5)	
		1 ppb	5 ppb
视黄醇	0.1 - 1000	9.8	3.1
α-胡萝卜素	0.5 - 1000	6.9	2.7
β-胡萝卜素	0.5 - 0500	8.5	3.7
β-隐黄素	0.5 - 1000	3.1	1.6
麦角钙化醇	0.1 - 1000	4.2	1.7
胆钙化醇	0.5 - 1000	9.6	4.0
α-生育酚	0.5 - 1000	6.9	1.5
β, γ-生育酚	0.1 - 1000	2.0	3.8
δ-生育酚	0.1 - 1000	7.5	5.5
叶绿醌 (维生素 K1)	0.5 - 1000	3.3	1.7
甲萘醌 -4	0.5 - 1000	9.5	2.9
甲萘醌 -7	0.1 - 1000	3.2	2.0

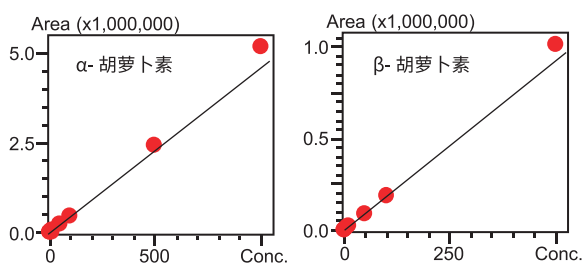


图 3 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的校准曲线

α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的定量

对两种市售蔬菜汁进行 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的定量。结果如表 4 所示。定量值在厂家的营养成分表范围内。

表 4 蔬菜汁中的 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的定量结果

化合物	蔬菜汁 a (μg/mL 饮料)	蔬菜汁 b (μg/mL 饮料)
α-胡萝卜素	20.3	15.7
β-胡萝卜素	40.5	56.3

α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素的离子抑制效应测试

在两种市售蔬菜汁的预处理萃取液中加入 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素，确认了离子抑制的影响。结果如表 5、6 所示。各蔬菜汁的 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素均获得了良好的回收率。

表 5 蔬菜汁 a 的回收率 (%)

化合物	加标浓度 (样品瓶中 μg/mL)		
	2	5	10
α-胡萝卜素	96.8	98.7	103.1
β-胡萝卜素	112.9	97.4	99.9

表 6 蔬菜汁 b 的回收率 (%)

化合物	加标浓度 (样品瓶中 μg/mL)		
	2	5	10
α-胡萝卜素	103.0	109.6	108.3
β-胡萝卜素	68.5	101.1	102.9

结论

使用 LC-MS/MS 对 13 种脂溶性维生素进行同时定量分析。通过本方法，可分别对 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素进行定量。通过便捷的预处理方式（省略皂化处理步骤），对市售蔬菜汁中的 α-胡萝卜素和 β-胡萝卜素进行了定量。通过加标回收试验检查离子抑制效应，同时也获得了良好的回收率。

<参考文献>

1) 厚生劳动省《日本人的饮食摄取标准 (2020 年版)》

岛津应用云

