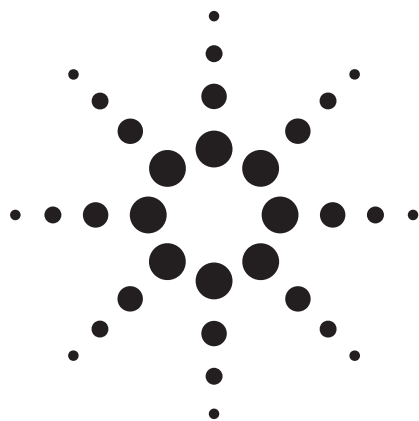




LC/TOF-MS 分析消化液中的叶酸

应用

食品安全

作者

M. H. Blokland, P. W. Zoontjes, S. S. Sterk, and L. A. van Ginkel,
National Institute of Public Health and the Environment (RIVM)
Laboratory for Food and Residue Analysis
Bilthoven
The Netherlands

Jerry Zweigenbaum
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE
USA

摘要

消化液样品未经进化处理，借助 LC/TOF-MS 的高分辨和准确质量测定能力，进行直接分析。样品来自体外的消化模型。通过方法学验证，本方法可用于这类模型中叶酸摄入量的检测。

引言

众所周知，摄入叶酸对人体健康有益。通常可以通过服用药物或食用富含叶酸的食品来增加叶酸的摄入量。

测定消化道中叶酸占总体摄入量的比例，对于研究叶酸的摄入非常重要。目前主要通过一种体外消化模型来研究叶酸的摄入性。

考虑到消化液成分复杂（例如，唾液、胃液和食糜），在对这类样品中的叶酸进行分析时，通常要求样品的净化程度较高。传统的净化方法包括免疫色谱法和固相萃取法。

利用 LC/TOF-MS 的高分辨能力和独有的准确质量测定性能，可以省去这些净化处理过程，对消化液中的叶酸进行直接检测。这可降低净化过程中叶酸降解的风险，使高通量分析成为可能。本应用报告介绍了直接检测消化液中叶酸的方法。

实验部分

样品制备

唾液、胃液和食糜按文献描述的方法进行准备 [1]。样品制备方法为直接取样，取一份消化液，直接注入 LC/TOF-MS 系统。



Agilent Technologies

LC/MS 条件

LC 条件

仪器:	Agilent LC 1200 SL
色谱柱:	ZORBAX SB-C8, 100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm (部件号 828700-906)
柱温:	80 °C
流动相:	A: 1% 甲酸水溶液 B: 乙腈-水-甲醇 (26:60:14, v/v)
梯度:	0 min 时, 流动相 B 的比例为 5% 4 min 时, 流动相 B 的比例为 5% 8 min 时, 流动相 B 的比例为 40% 8.1 min 时, 流动相 B 的比例为 40% 9 min 时, 流动相 B 的比例为 5%

流速: 0.5 mL/min

进样量: 10 μL

MS 条件

仪器:	Agilent 6210 LC/TOF-MS
离子源:	ESI 正离子模式
干燥气流速:	9 L/min
雾化器压力:	60 psig
干燥气温度:	350 °C
毛细管电压:	4000 V
碰撞诱导解离电压:	150 V
Skimmer:	60 V
扫描方式:	m/z 110-940, 每秒扫描 1.5 次
内标参比溶液:	含有 2 ml/L 嘌呤和 1 ml/L HP-921 的乙腈溶液 (100 mg/L), 以恒定的速率从第二个喷口喷入
参比质量:	m/z 121.020873 和 922.009798

结果与讨论

校正标准品

叶酸的结构见图 1。在本研究的分析条件下, 由于不用考虑灵敏度, 因此, 仅对准确质量分析和预期的样品浓度下的线性进行优化。图 2 为 1 μg/mL 标准品的色谱图。该浓度下的信噪比 (S/N) 通常大于 500。

以在 1 μg/mL ~ 100 μg/mL 范围内建立校正曲线, 证明 LC/TOF-MS 具有较宽的线性动态范围。

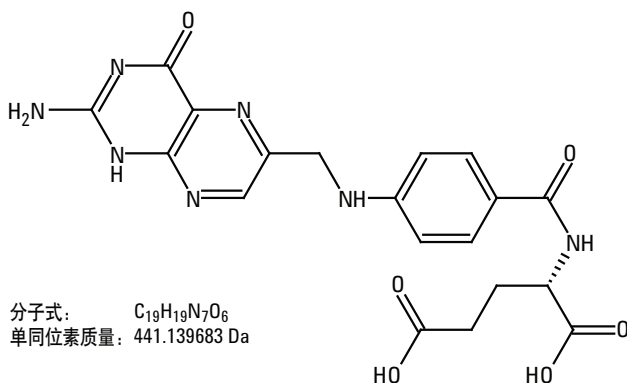


图 1. 叶酸的结构式、精确分子量及分子式

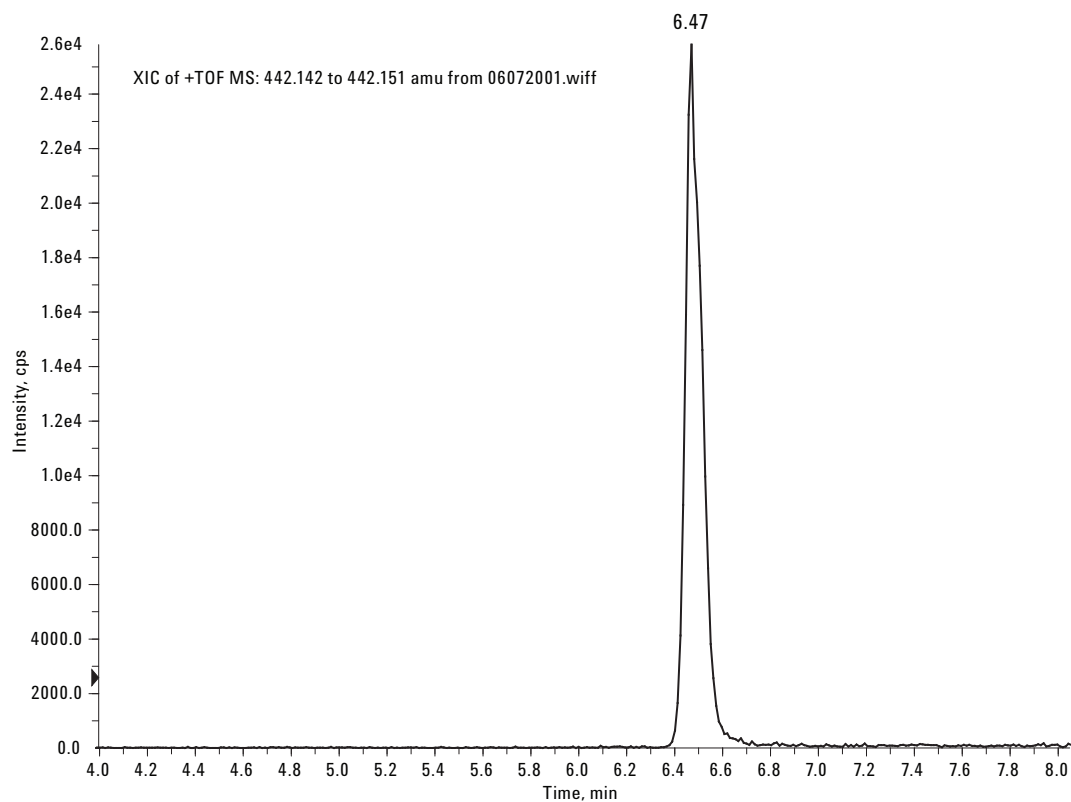


图 2. 1 $\mu\text{g/mL}$ 叶酸标准品的提取离子色谱图（离子提取窗口为 $M+H$ 离子准确质量 ± 10 ppm）

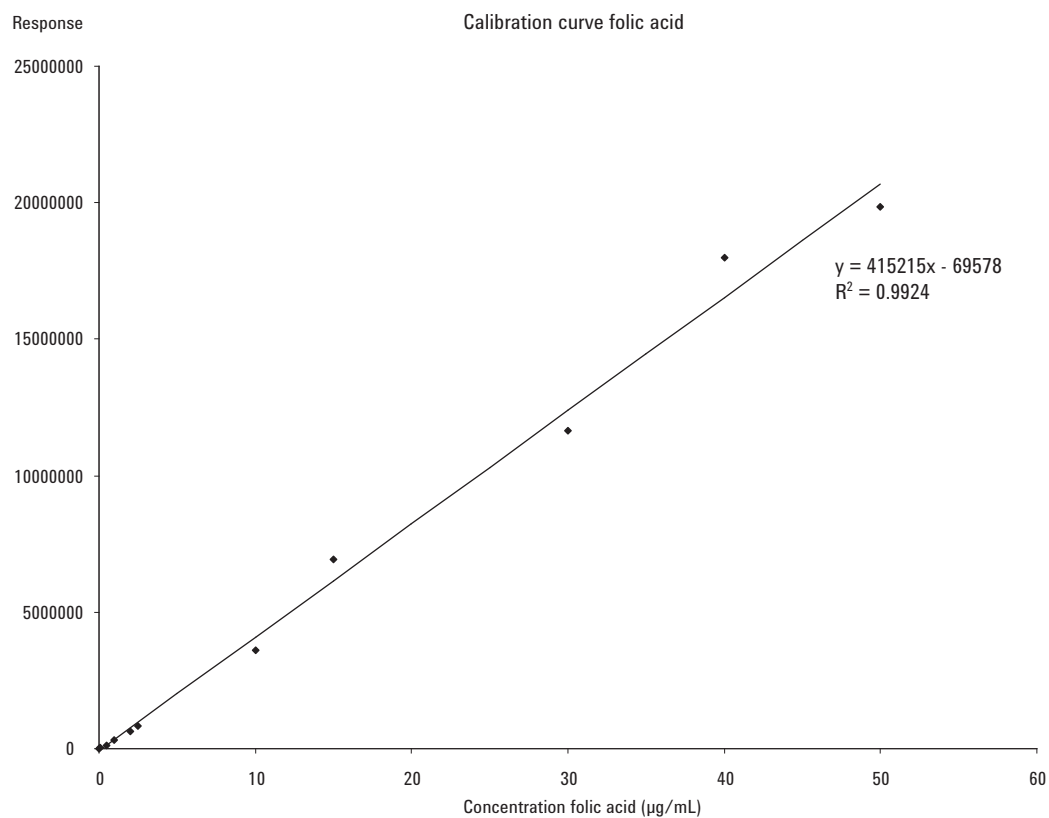


图 3. 1~100 $\mu\text{g/mL}$ 的叶酸校正曲线

方法学验证

图 4~6 分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 消化液加标样品的总离子色谱图 (TIC)、提取离子色谱图 (EIC) 和质谱图。所有样品中目标化合物的质量准确度均优于 3 ppm。EIC 是在 442.1425~442.1515 (± 10 ppm) 的质量窗口中提取而得。

基质效应考察

通过测定加标的唾液、胃液和食糜样品考察基质效应。加标浓度为 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 75 和 100 $\mu\text{g/mL}$ 。图 7 显示了各种基质中目标化合物的响应情况。结果显示, 食糜样品的基质抑制效应最小, 而唾液和胃液的基质抑制效应相对较高。

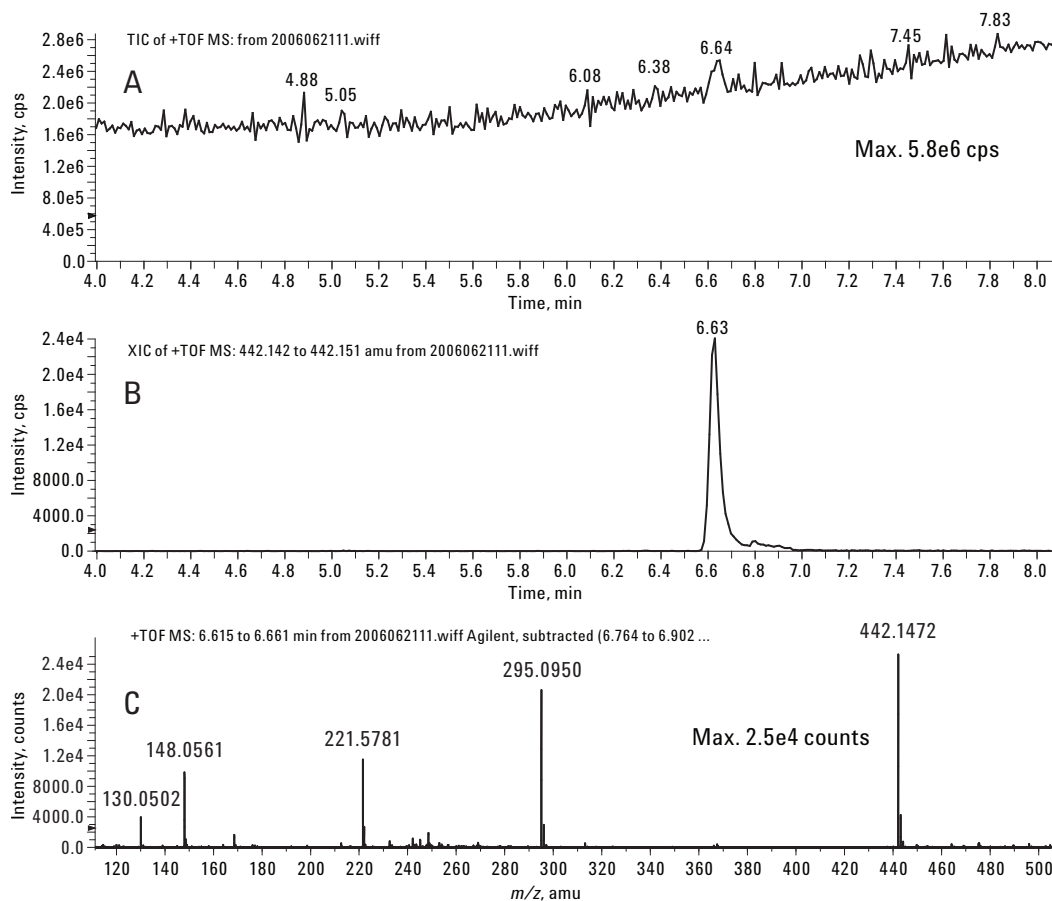


图 4. 1 $\mu\text{g/mL}$ 唾液加标样品中叶酸的 TIC (A)、EIC (B) 和质谱图 (C)

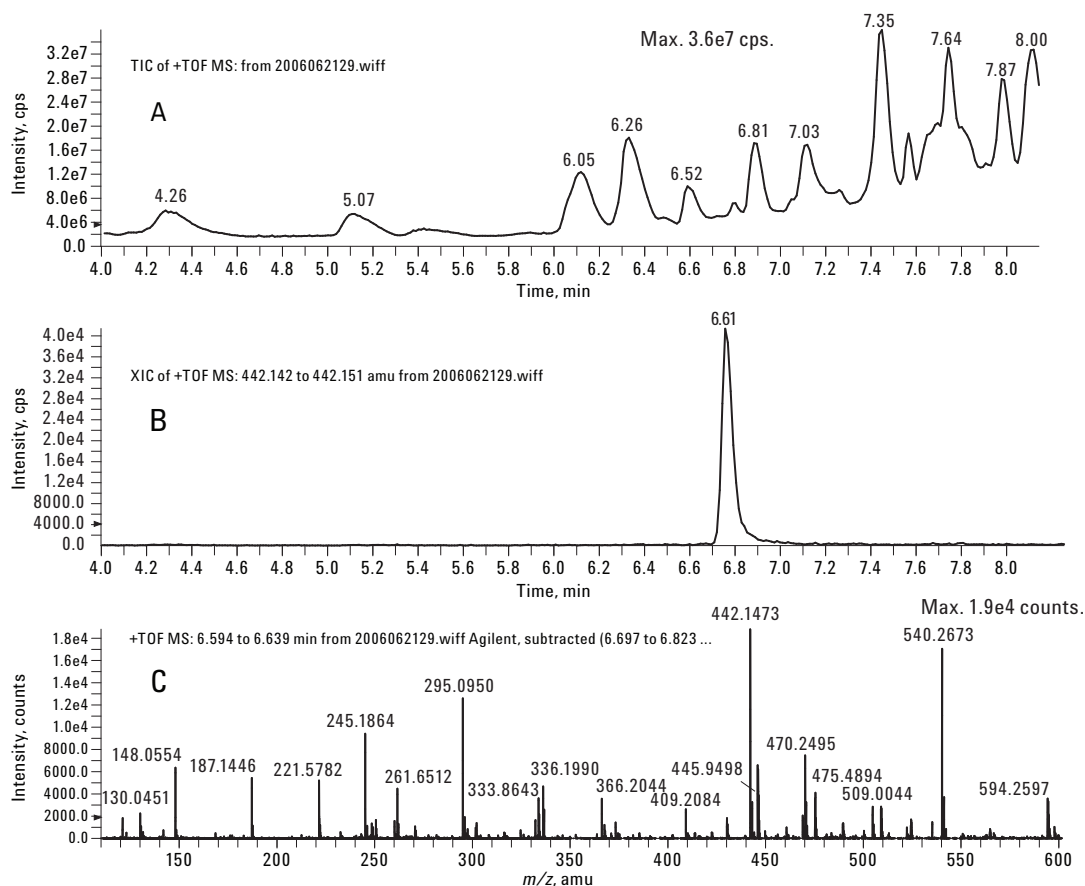


图 5. 1 µg/mL 胃液加标样品中叶酸的 TIC (A)、EIC(B) 和质谱图 (C)

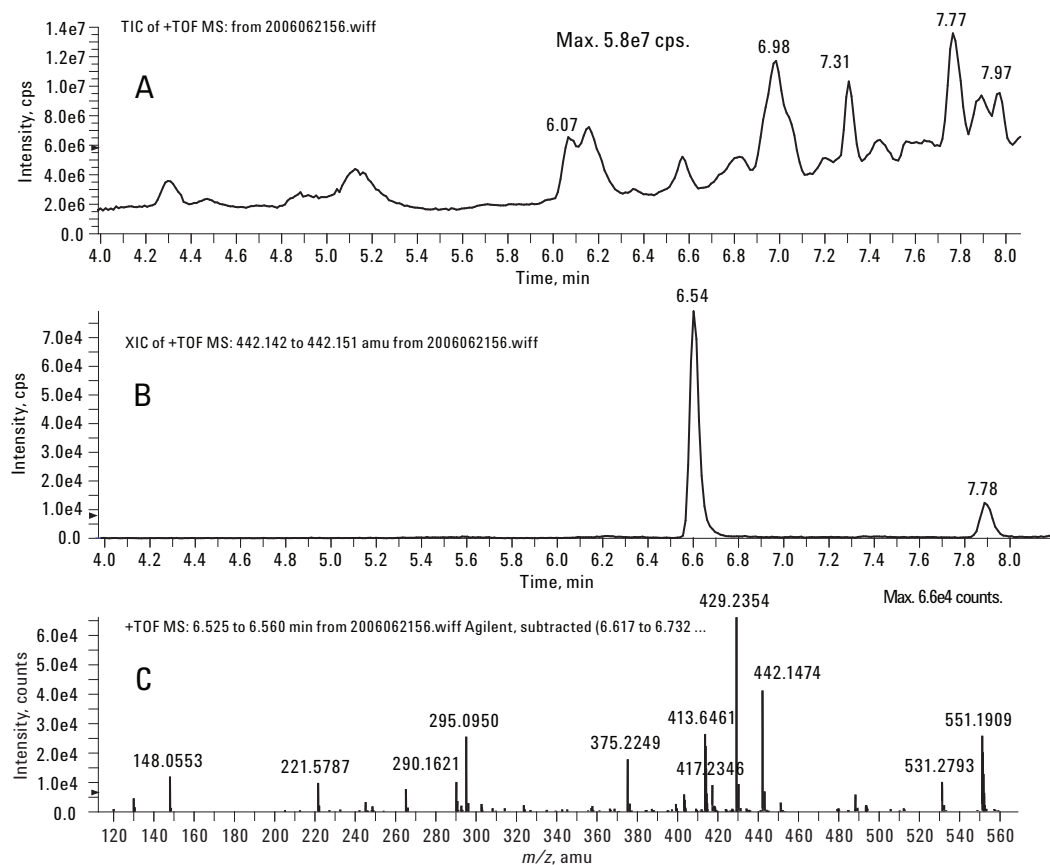


图 6. 1 µg/mL 食糜加标样品中叶酸的 TIC (A)、EIC (B) 和质谱图 (C)

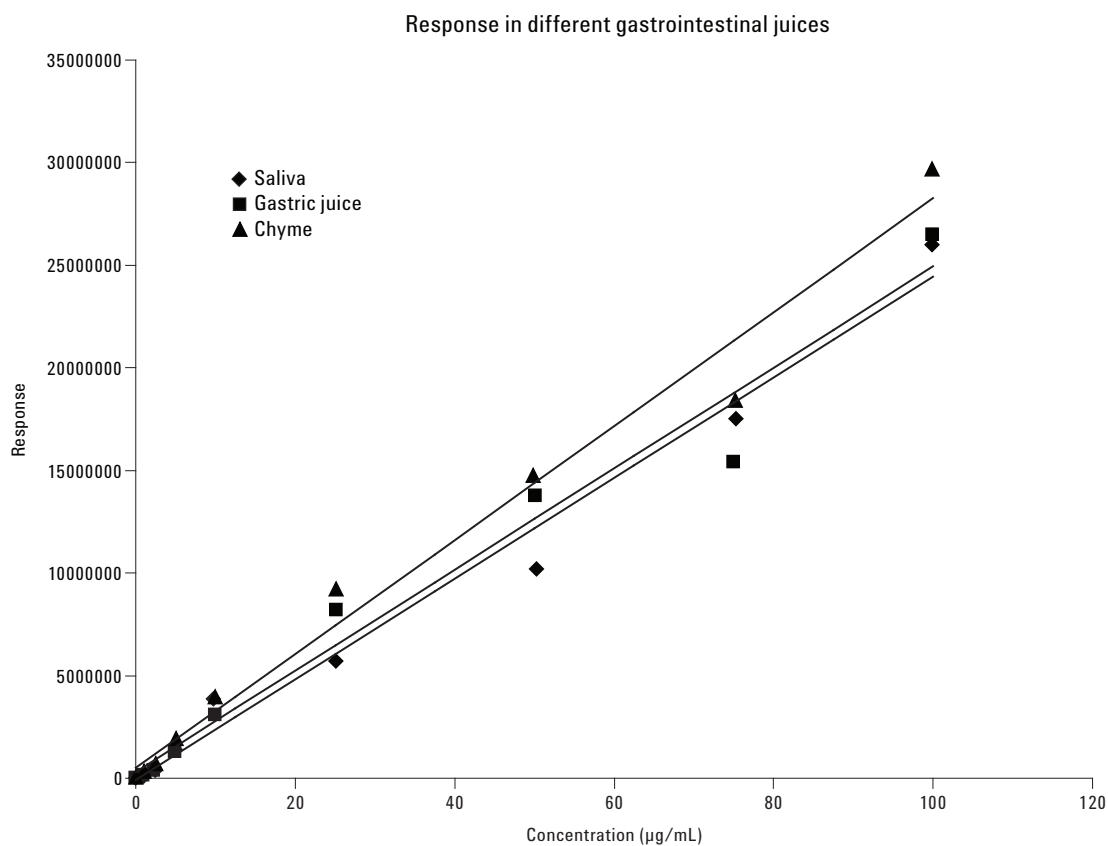


图 7. 不同消化液加标样品中叶酸的校正曲线

为考察方法的准确度和精密度，取 50 µg/mL 的加标胃液和食糜，在 4 天中分别进行分析，每两天之间相隔一个星期，结果见表 1。

通过绘制标准曲线，对唾液、胃液和胆汁中的检测限 (LOD) 进行测定。由校正曲线计算得到 Y 轴截距和

斜率。LOD 为 Y 轴截距相应的浓度加上三倍的 Y 轴截距标准偏差。计算结果见表 2。

表 1. 准确度 (%) 和变异性 (%)

	第一周 准确度 (%)	CV (%)	第二周 准确度 (%)	CV (%)	第三周 准确度 (%)	CV (%)	第四周 准确度 (%)
胃液	91.9	1.2	99.3	4.2	82.9	6.0	91.7
食糜	99.9	2.1	102.5	3.7	91.4	4.2	93.3

表 2. 检测限 (LOD) 计算结果

	唾液 (µg/mL)	胃液 (µg/mL)	食糜 (µg/mL)
LOD	0.4	0.7	0.6

结论

本次研究工作的目的是在尽量简化净化处理步骤的基础上，开发一种消化液中叶酸的分析方法。利用 Agilent LC-TOF 的高分辨能力，样品可以不经任何净化处理，直接检测。这种检测方法已证明在复杂基质中具有很高的准确度和重现性。在不同基质中响应值均呈线性，基质效应较小，并且在叶酸摄入研究所要求的检测浓度范围内对方法进行了验证。

参考文献

1. C. H. Versantvoort, A. G. Oomen, E. Van de Kamp, C. J. Rompelberg, and A. J. Sips. "Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food." *Food Chem Toxicol*, 2005 Jan, 43(1).

更多信息

有关产品和服务的更多信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

本文中所包含的信息仅用于研究，不作为一般的诊断程序。

安捷伦公司对本材料中可能有的错误或有关装备、性能或使用这一材料而带来的偶然或间接伤害不负任何责任。

本材料中的信息、说明和指标，如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司版权所有，2006

中国印刷
2006 年 12 月 27 日
5989-5869CHCN



Agilent Technologies