

Ultimate 3000 液相在维生素A、E快速分析方面的应用

郑喆 曹建明

赛默飞世尔科技(中国)有限公司, 北京 100000

摘要

本文基于赛默飞Ultimate 3000液相色谱平台针对血液样本中维生素A、E建立了快速检测方法。维生素A、E在其适宜的浓度范围内线性关系良好(VA : 0.06-3.6 ug/mL , 相关系数>0.9994 ; VE : 0.6-36 ug/mL , 相关系数>0.9997) , 三次连续进样峰面积重现性RSD0.56%满足规定的检测要求 , 运用本方法对血液样本中维生素A、E检测具有指导意义。

关键词

维生素A , 维生素E

1. 引言

人体能以最低限度但足够的量储存维生素A , 直到患某种疾病或其他情况 , 如怀孕 (由于身体需要量增加) 。血清维生素A 低于 0.2ug/mL 表示不足 , 低于 0.1ug/mL 表示缺乏 , 膳食中维生素A 或胡萝卜素不足 , 或由于吸

收不良都可能引起缺乏 , 临床表现主要是眼和皮肤 ; 血清维生素A 含量增高可引起急性、慢性及致畸毒性。维生素E 也叫生育酚 , 人血清中维生素E 的正常值在 11.6~46.4umol/L , 缺乏易导致流产、不孕不育。过量则导致血栓性静脉炎、肺栓塞、下肢水肿、免疫力下降等问题。维生素A、E 的检测在临床上具有重要意义。该方案针对的医院科室 : 儿保科、妇产科、消化内科、皮肤科、眼科、内分泌科。

2. 实验部分

2.1 仪器与试剂

2.1.1 Thermo Fisher Ultimate 3000 DGLC双三元高效液相色谱仪 , 泵 : DPG-3600SD Pump , 自动进样器 : WPS-3000SL , 柱温箱 : TCC-3000SD , 检测器 : FLD-3400RS , 色谱软件 : 变色龙Chromeleon 7.2

2.1.2 试剂、标品 (色谱纯 , 具体流动相详情请咨询赛默飞液相应用工程师)

2.2 化合物信息及溶液配制

2.2.1 系列标准曲线 : 配制VA系列标准溶液 0.06 ug/mL - 3.6 ug/mL。配制VE系列标准溶液

0.6 ug/mL – 36 ug/mL。

2.2.2 配制VA内标溶液7.5 ug/mL，VE内标溶液7.5 mg/mL

2.3 色谱条件

色谱柱：Thermo Accucore aQ（50×3.0mm）

柱温：35 °C；

进样量：5 μL；

波长：荧光检测器波长设置见表3

流动相：详情请咨询赛默飞液相应用工程师，梯度洗

脱程序（表1）

表 1. 梯度洗脱程序

时间	A	B	流速
0.00	89	11	1.0
0.26	89	11	1.0
1.30	95	5	1.0
2.80	95	5	1.0
2.90	89	11	1.0
3.90	89	11	1.0

3. 实验结果与讨论

3.1 重现性测试

采用上述仪器分析方法，维生素 A、E 及其内标在 3.9 分钟内均可获得良好的色谱峰，图 1 为三针连续进样叠图其中维生素 A、E 的测试结果见表 2。

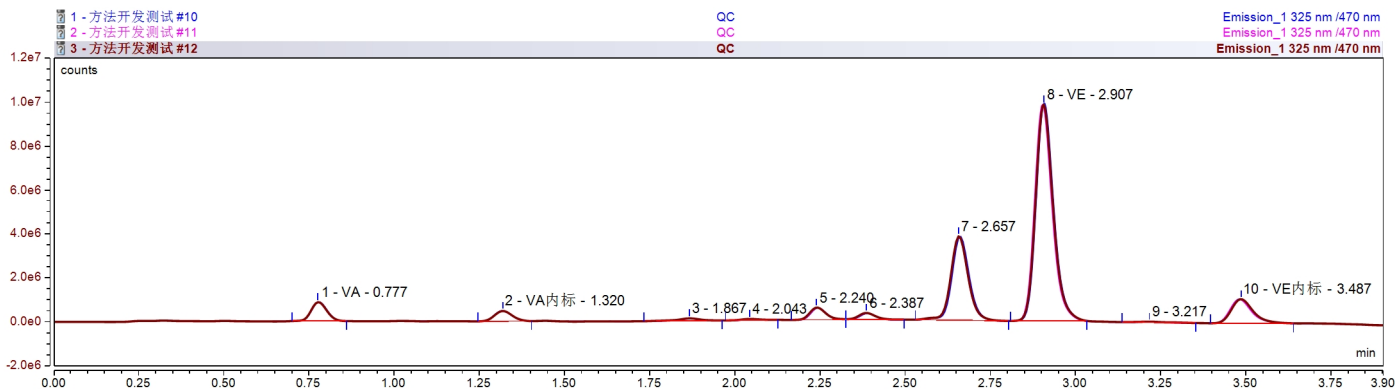


图 1. 三针连续进样叠图（VA 约 0.35 ug/mL，VE 约 10.5 ug/mL）

进样序号	保留时间min	峰面积counts*min	分离度EP	塔板数EP
10	2.91	593013	5.59	15798
11	2.90	588933	2.77	15801
12	2.91	590586	2.87	15710
相对标准偏差	0.12%	0.35%		

表 2. 三针连续进样数据（VA 约 0.35 ug/mL，VE 约 10.5 ug/mL）

序号	时间 [min]	通道	激发波长 [nm]	发射波长 [nm]	灵敏度	PMT	滤光轮
1	0.000	Emission_1	325.0	470.0	8	Pmt1	435nm
2	1.600	Emission_1	295.0	330.0	4	Pmt1	280nm
3	3.900	Emission_1	325.0	470.0	8	Pmt1	435nm

表 3 荧光检测器时间程序波长

3.2 线性范围测试

采用上述仪器分析方法，对维生素 A、E 进行线性范围测试，线性相关系数 r^2 均大于 0.999，线性关系良好。维生素 A、E 线性叠图见图 2，线性范围、线性相关系数等结果见表 4，线性方程图见图 3。

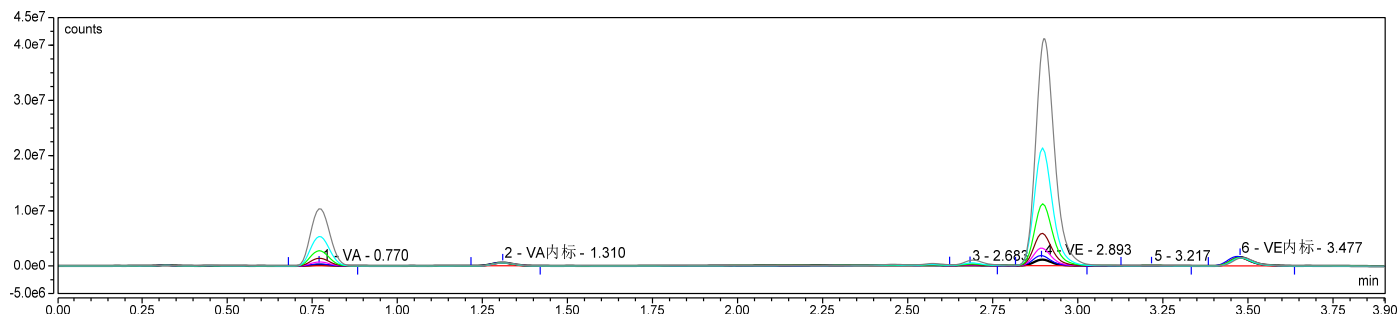


图 2 维生素 A、E 线性叠图 (7 个浓度点)

化合物	线性范围 (ug/mL)	相关系数 (r^2)	LOD (ug/mL)	LOQ (ug/mL)
维生素 A	0.06-3.6	0.9994	0.004	0.015
维生素 E	0.6-36	0.9997	0.008	0.027

表 4 维生素 A、E 的线性范围、线性相关系数等

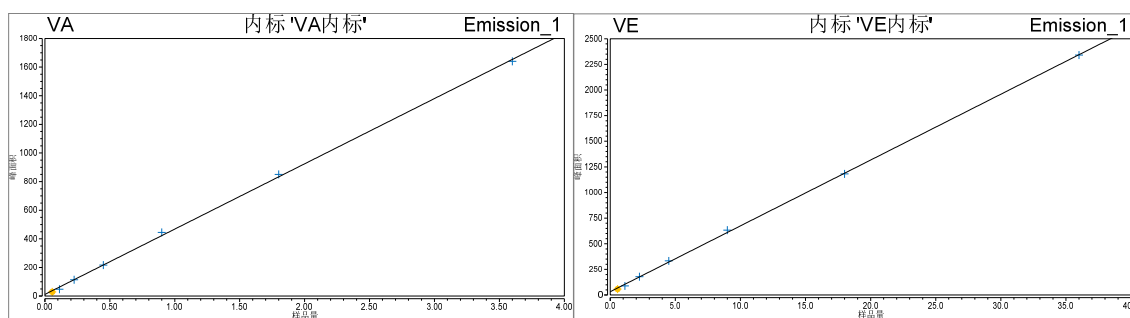


图 3. 维生素 A、E 线性标曲图

峰序号	峰名称	保留时间min	R^2 %	相关系数 %	C0(截距)	C1(斜率)
1	VA	0.77	99.94	99.97	12.09	456.06
4	VE	2.89	99.97	99.99	32.40	64.22

表5 维生素A、E的标曲方程等



赛默飞
官方微信



赛默飞色谱
和质谱中国

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC