

# Application News

## No. L491

高效液相色谱  
High Performance Liquid Chromatography

## 使用 Nexera-e 对红辣椒中的类胡萝卜素进行全二维分离

Comprehensive 2D Separation of Carotenoids in Red Chili Pepper by the Nexera-e System

类胡萝卜素是一种天然存在的色素。这种色素包括仅由碳氢构成的胡萝卜素和含氧的叶黄素两种。由于类胡萝卜素包含很多双键，近年来其抗氧化作用备受关注。许多研究表明，类胡萝卜素对生活方式病等疾病的预防也非常有效。

食品中含有的类胡萝卜素种类繁多，使用常规 HPLC 很难同时将其分离进而定量，但通过全二维分离系统 Nexera-e 可有效进行分析。本次使用全二维系统对红辣椒中提取的类胡萝卜素进行分析，在一维系统利用正相条件进行微尺度分离，在二维系统利用反相条件进行分离，再联用光电二极管阵列（PDA）和三重四级杆质谱联用仪 LCMS-8030 进行测定。因为一维正相和二维反相的分离模式不同，通过组合使用可以得到高精度的分析结果，是一种理想的二维 HPLC 分析方法。

### ■ 类胡萝卜素的全二维分离和使用光电二极管阵列检测器进行检测

Comprehensive Separation of Carotenoids Detected by the Photodiode Array Detector

将 Nexera-e 和光电二极管阵列检测器（PDA）联用，只需一次分析就可以分离共存成分，并通过最佳波长进行检测。图 1 为使用专用处理软件 ChromSquare 得到的全二维分离图谱（吸收波长 = 450 nm）。在一维系统使用氰基色谱柱，二维系统使用 ODS 色谱柱，根据分子极性对 hydrocarbons、monool esters、diol diesters、diol monoketo diesters、diol diketo diesters、diol mono epoxide mono esters、free monools、diol monoketo monoesters、diol diketo mono esters、polyoxygenated free xanthophylls 等 10 种成分进行分类后，通过各类化合物中的脂肪酸残基的疏水性确认组分分离。

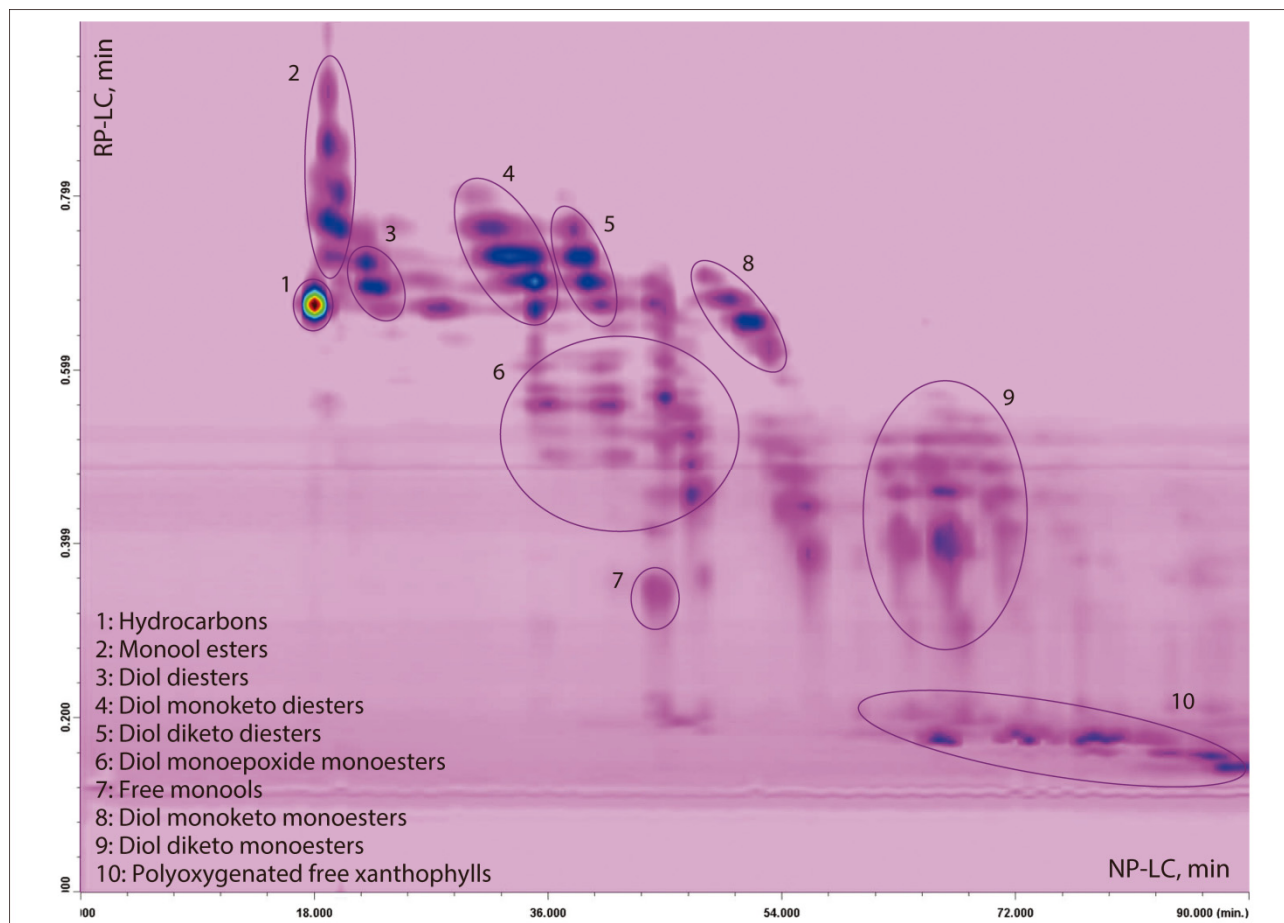


图 1 类胡萝卜素的全二维分离图  
2D Plot of Carotenoids Using ChromSquare Software

■ 使用 LC/MS/MS 对红辣椒中的  $\beta$ -胡萝卜素进行定量

Quantitation of  $\beta$ -Carotene in Red Chili Pepper by LC/MS/MS

表 1 和图 2 中分别为分析条件和样品的预处理条件。在类胡萝卜素的二维分离中检测到维生素 A 的前体  $\beta$ -胡萝卜素，再用三重四极杆质谱联用仪 LCMS-8030 进行定量。因为 MRM 分析具有灵敏度高，重复性好的特点，而使用 Nexera-e 进行二维分离则可以降低离子抑制。

图 3 为通过标准曲线 DUIS-positive mode MRM 分析得到的  $\beta$ -胡萝卜素的二维分离数据；图 4 为在 0.01~10 mg/L 范围内的 3 个浓度点与对应的峰面积做线性，用于定量分析。线性相关系数 (r) 为 0.998976，表示线性良好。并且，作为最终提取样品的浓度，红辣椒中含有的  $\beta$ -胡萝卜素的定量结果为 1.22 mg/L。

表 1 分析条件  
Analytical Conditions

1D 色谱柱	: Ascentis Cyano (250 mm L. $\times$ 1.0 mm I.D., 5 $\mu$ m)
流动相	: A; 正己烷 B; 正己烷 / 醋酸丁酯 / 丙酮= 80/15/5 (v/v/v)
流速	: 0.02 mL/min
时间程序	: B Conc. 0 % (0.01 min) $\rightarrow$ 0 % (5 min) $\rightarrow$ 100 % (65 min) $\rightarrow$ 100 % (75 min) $\rightarrow$ 0 % (76 min)
柱温	: 30 $^{\circ}$ C
进样体积	: 2 $\mu$ L
定量环体积	: 20 $\mu$ L
2D 色谱柱	: Ascentis Express C18 (30 mm L. $\times$ 4.6 mm I.D., 2.7 $\mu$ m)
流动相	: A; 乙腈 B; 2-丙醇
流速	: 4 mL/min (0.8 mL/min split for MS)
时间程序	: B Conc. 30 % (0.01 min) $\rightarrow$ 50 % (0.17-0.54 min) $\rightarrow$ 80 % (0.54-0.93 min) $\rightarrow$ 30 % (0.94 min) $\rightarrow$ STOP (1 min)
检测器	: SPD-M30A 二极管阵列检测 (标准池, 波长= 450 nm) Shimadzu LCMS-8030 (DUIS 正离子模式, 目标 $\beta$ -胡萝卜素 MRM 离子对: m/z 536.40 > 444.30)

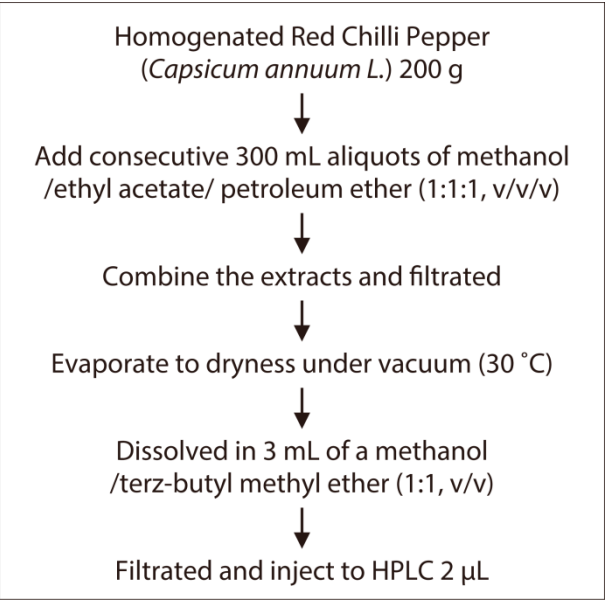


图 2 样品预处理  
Sample Preparation

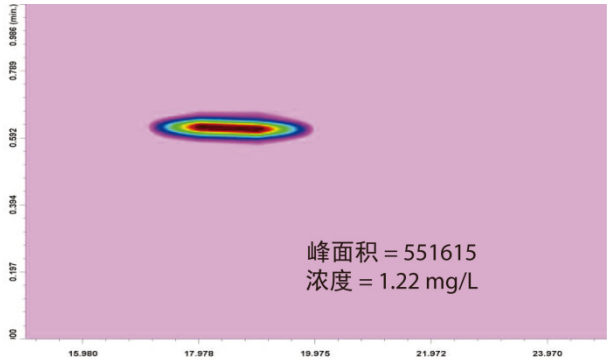


图 3  $\beta$ -胡萝卜素的二维图谱  
2D Plot of  $\beta$ -Carotene

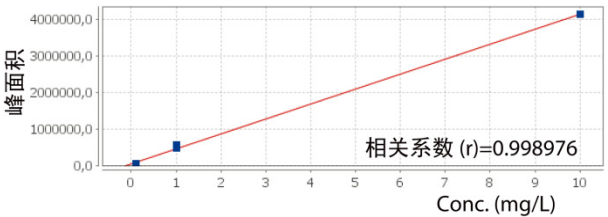


图 4  $\beta$ -胡萝卜素的标准曲线  
Linearity of Calibration Curve for  $\beta$ -Carotene

数据提供: University of Messina, Prof. Luigi Mondello and Chromaleont S.r.l



岛津企业管理（中国）有限公司  
岛津（香港）有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439  
400-650-0439

免责声明:  
\* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;  
\* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。  
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2015 年 5 月