

Qualitative und quantitative Bestimmung von Stereoisomeren der Retina-Carotinoide Lutein und Zeaxanthin in biologischen Proben

Leuthold Patrick

Molecular Life Sciences, Chemie

DSM Nutritional Products AG, 4303 Kaiseraugst

KURZZUSAMMENFASSUNG

Im menschlichen Auge wird meso-Zeaxanthin aus 3R,3'R,6'R-Lutein gebildet, während in der Pflanzenwelt nur die Form des all-E-3R,3'R-Zeaxanthin vorhanden ist. Im Gegensatz zu früher wurde in den letzten Jahren auch meso-Zeaxanthin im menschlichen Blut nachgewiesen. Die Vermutung ist naheliegend, dass dieses meso-Zeaxanthin über die Nahrung in den Blutkreislauf gelangt. Um die optischen Stereoisomere von Zeaxanthin in Blutplasma empfindlicher detektieren zu können, wurde ein chirales normal-phase HPLC-System an ein APCI-MS (Single Quadrupole) gekoppelt.

EINLEITUNG

Die Trennung der optischen Stereoisomere erfolgte isokratisch auf einer Chiralpak AD-H (0.46 cm x 25 cm) mit den Eluenten n-Hexan/Isopropanol (95:5, v/v) ähnlich wie nach Britton et al.. Das charakteristische Fragment-Ion, welches aus der APCI resultierte wurde als m/z 569 [M+H]⁺ identifiziert. Die

Aufarbeitung des Blutplasmas erfolgte nach der Proteinfällung mit Ethanol durch flüssig/flüssig Extraktion mit n-Hexan/Chloroform (80:20, v/v). Nach dem Einengen und der Wiederaufnahme im Eluenten erfolgte die Injektion ins HPLC-System.

RESULTATE

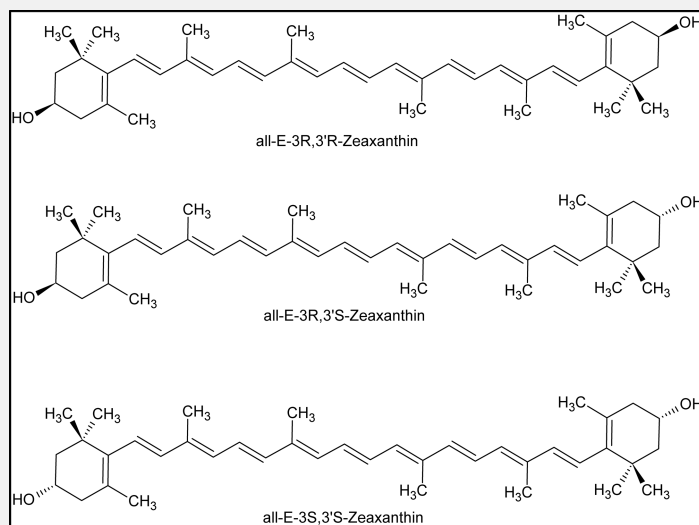


Abb. 1: Optische Stereoisomere von Zeaxanthin.

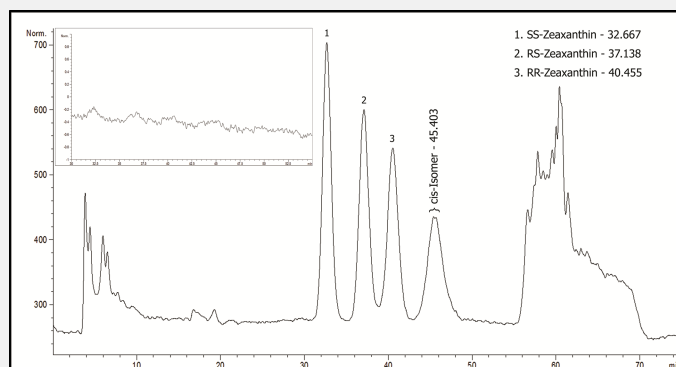


Abb. 2: EIC der Trennung der optischen Stereoisomere von Zeaxanthin mit einer Konzentration von ca. 10 ng/mL Rinderserum. Zum Vergleich oben links im Bild ein DAD-Spektrum (60 mm Messzelle) von derselben Lösung.

Die Empfindlichkeit konnte gegenüber der DAD-Detektion um etwa Faktor 80 gesteigert werden. Die Nachweis- und die Bestimmungsgrenzen im Blutplasma liegen bei 0.500 ng/mL, resp. bei 1.680 ng/mL Blutplasma.

SCHLUSSFOLGERUNG

Es ist unüblich, normal-phase HPLC mit MS-Detektion zu koppeln. In diesem Fall hat dies jedoch gut funktioniert. Die Empfindlichkeit konnte durch die Kopplung ans APCI-MS

deutlich gesteigert werden. Die Empfindlichkeit dieser Methode ist genügend hoch, dass Zeaxanthin auch in Trockenblut analysiert werden kann.

REFERENZEN

G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander, *Carotenoids, Nutrition and Health*, Birkhäuserverlag, 2009.

Begleitdozent:
Experte:
Industrievertreter::

Prof. Dr. Götz Schlotterbeck
Dr. Markus Ehrat
Georges Riss
Stephane Etheve
Dr. Joseph Schierle