

探討樣品基質效應與 HPLC-MS/MS 測定尿液中與腸道菌叢代謝相關的九種有機酸之關係

林敬浩¹、林逸柔^{2,3}、邱群惠^{1,3}、鮑力恒^{*1,3}

長庚科技大學健康產業科技研究所¹

長庚科技大學保健營養系²

長庚科技大學食品暨化妝品安全研究中心³

利用 HPLC-ESI-MS 分析人類尿液中與腸道菌叢代謝相關的九種有機酸尿，包括苯甲酸 (Benzoic acid, BA)、馬尿酸 (Hippuric acid, HA)、苯乙酸 (Phenylacetic acid, PAA)、苯丙酸 (Phenylpropanoic acid, PPA)、對羥基苯甲酸 (4-Hydroxybenzoic acid, 4-HBA)、4-羥基苯乙酸 (4-Hydroxyphenylacetic acid, 4-HPAA)、吲哚乙酸 (Indoleacetic acid, IAA)、二羥基苯丙酸 (3,4-Dihydroxyphenyl propionic acid, 3,4-DHPPA)、3-羥基苯丙酸 (3-Hydroxyphenylpropionic acid, 3-HPPA)。經過實驗發現其分析方法中具有基質效應 (Matrix effect) 的情形，而基質效應是指在層析過程中，同時進入質譜的其他物質，造成待測物於游離源中離子化效率不佳，進而影響定量的結果，其中大部分為游離化抑制現象 (ion suppression)，少部分為游離化增強現象 (enhancement)。在九種有機酸與肌酐酸經前處理，計算其回收率後，發現其中 Hippuric acid 及 Creatinine 在低濃度 (120 及 300 ppb) 及高濃度 (640 及 1600 ppb) 時，其回收率分別為 60.6 ± 5.9 與 $79.6 \pm 6.1\%$ 及 27.7 ± 2.3 與 $22.9 \pm 2.2\%$ ，表示在低濃度與高濃度都具有離子抑制現象；3,4-Dihydroxyphenyl propionic acid 在低濃度 (120 ppb) 及高濃度 (640 ppb) 時，其回收率為 215.6 ± 20.3 與 $229.8 \pm 18.7\%$ ，表示在低濃度與高濃度都具有較高的離子增強現象。因此，本研究目的為改善在尿液樣品中基質效應的情形。結果顯示分析 Hippuric acid 及 3,4-Dihydroxyphenyl propionic acid 所產生的基質效應，採取稀釋法降低非待測物成分進入分析，即可降低基質效應；在分析 Creatinine 則採用穩定同位素標定的內標準品 (Creatinine-d3) 即可校正基質所產生的效應。本研究開發出可克服在尿液分析中造成的基質效應之 HPLC-ESI-MS 方法，在低與高濃度品管樣品，都具有良好的準確度及精確度。