

XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI HÀM LƯỢNG MỘT SỐ VITAMIN NHÓM B BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MAO QUẢN SỬ DỤNG DETECTOR ĐỘ DẪN KHÔNG TIẾP XÚC (CE-C⁴D)

ĐẶNG THỊ HUYỀN MY⁽¹⁾, NGUYỄN QUANG HUY^(1,2), MAI THỊ THANH TÂM⁽¹⁾,
LÊ ĐỨC DŨNG⁽¹⁾, PHẠM HOÀNG NGUYỄN⁽³⁾, PHẠM THỊ QUỲNH⁽³⁾,
NGUYỄN THỊ MINH THU⁽¹⁾, NGUYỄN THỊ ÁNH HƯỜNG⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vitamin là những chất hữu cơ có vai trò quan trọng và đặc biệt cần thiết đối với các quá trình chuyển hóa, đảm bảo hoạt động bình thường cũng như sự sinh trưởng và phát triển của cơ thể [1, 2]. Các vitamin nhóm B tan trong nước có vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất của tế bào, bao gồm: thiamin (vitamin B₁), riboflavin (vitamin B₂), nicotinamit (vitamin B₃), pantothenic (vitamin B₅), piridoxin (vitamin B₆), acid folic (vitamin B₉), cyanocobalamin (vitamin B₁₂)... [3]. Trong đó, ba vitamin B₁, vitamin B₅ và vitamin B₉ được sử dụng phổ biến và rộng rãi. Vitamin B₁ giúp đảm bảo quá trình trao đổi chất, ngăn ngừa tổn thương thần kinh, duy trì hệ miễn dịch khỏe mạnh [2, 4]. Vitamin B₅ góp phần hình thành coenzyme A cần thiết cho các hoạt động chuyển hóa năng lượng của tế bào, có vai trò quan trọng trong quá trình phát triển chức năng của hệ thần kinh trung ương [5]. Vitamin B₉ giúp giảm khả năng ung thư, cải thiện sức khỏe tim mạch, ngăn ngừa đột quỵ, tái tạo tế bào máu, hỗ trợ thai kỳ khỏe mạnh [2, 4, 6]. Tuy nhiên, hầu hết các chất này cơ thể không tự tổng hợp được mà cần bổ sung từ bên ngoài vào. Việc bổ sung không chỉ thông qua thực phẩm hàng ngày như rau củ, thịt, trứng,... mà còn thông qua các loại thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Tùy vào độ tuổi, thể trạng và giới tính mà cơ thể mỗi người cần bổ sung một lượng chất khác nhau [7]. Do đó, xác định hàm lượng của các vitamin này trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe là cần thiết, nhằm đảm bảo chất lượng sản phẩm và sức khỏe người tiêu dùng.

Hiện nay, nhiều phương pháp đã được sử dụng để xác định các vitamin B trong nguyên liệu, dược phẩm và thực phẩm bảo vệ sức khỏe bao gồm: phương pháp điện hóa [8, 9], phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) [10, 11, 12], điện di mao quản (CE) [13, 14, 15]. Trong đó, phương pháp CE được sử dụng ngày càng phổ biến do kết hợp được với nhiều loại detector như detector độ dẫn, detector khối phổ (MS), detector UV... Hệ thiết bị điện di mao quản kết hợp detector độ dẫn không tiếp xúc (CE-C⁴D) có các ưu điểm như gọn nhẹ, hiệu quả tách cao, tốn ít hóa chất và mẫu phân tích, có thể tối ưu hóa để phân tích tại chỗ hoặc ra hiện trường [16]. Do đó, trong nghiên cứu này, phương pháp CE-C⁴D được sử dụng để xác định đồng thời hàm lượng vitamin B₁, vitamin B₅ và vitamin B₉ trong các mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu này, hàm lượng của vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ được xác định trong các mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe (TPBVSK) dạng viên nang cứng và viên nang mềm.

2.2. Hóa chất, chất chuẩn

Các hóa chất, chất chuẩn sử dụng trong nghiên cứu này đều thuộc loại tinh khiết phân tích bao gồm:

- Chất chuẩn: vitamin B₁ (Chất chuẩn của viện kiểm nghiệm thuốc Trung Ương, độ tinh khiết 99,8%), vitamin B₅ (Sigma- Aldrich, độ tinh khiết 98%), vitamin B₉ (Sigma- Aldrich, độ tinh khiết 97%).

Dung dịch chuẩn gốc 500 mg/L: cân chính xác 12,5 mg vitamin vào cốc và thêm 10 mL nước deion để hòa tan. Tiến hành rung siêu âm trong 30 phút để hòa tan hoàn toàn. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 25mL (tráng cốc ít nhất 3 lần) và định mức tới vạch bằng nước deion. Dung dịch được bảo quản trong tủ lạnh, tránh ánh sáng. Dung dịch chuẩn làm việc được chuẩn bị bằng cách pha loãng với tỷ lệ thích hợp từ dung dịch chuẩn gốc.

- Các hóa chất khác: tris (hydroxymethyl) aminomethan (Tris) (Fluka, ≥ 99%), L-histidin (His) (Fluka, ≥ 99%), arginin (Arg) (Fluka, ≥ 98%), acid acetic (Ace) (Merck, ≥ 99%), metaphosphoric (PA, Merck), acetonitrile (ACN) (PA, Merck), n-hexan (PA, Merck), nước deion được dùng để pha các dung dịch.

2.3. Thiết bị

Thiết bị CE-C⁴D sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Công ty 3S Analysis. Thiết bị sử dụng nguồn thế cao lên đến 25 kV; mao quản silica (Polymicro Technologies, Phoenix), chiều dài là 50 cm (chiều dài hiệu dụng là 30 cm), đường kính trong (ID) là 50 μm, đường kính ngoài (OD) là 375 μm; detector độ dẫn không tiếp xúc (C⁴D). Thông tin về đặc điểm kỹ thuật của hệ thiết bị có thể tham khảo trong các công bố trước đây của nhóm nghiên cứu [17].

Ngoài thiết bị CE-C⁴D, nghiên cứu cũng sử dụng thiết bị UPLC-MS/MS (ACQUITY UPLC H-Class; Waters) trong phân tích đối chứng [10] và một số thiết bị, dụng cụ khác trong phòng thí nghiệm như: máy ly tâm LCEN -200, máy rung siêu âm có gia nhiệt BRANSON 521, máy đo pH HANNA, cân phân tích Scientech (Mỹ) với độ chính xác 0,1 mg.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

04 mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe được mua ngẫu nhiên trên thị trường Hà Nội, bao gồm dạng viên nang cứng và viên nang mềm. Trên cơ sở tham khảo tài liệu [10, 13-15] và khảo sát thực tế, quy trình xử lý mẫu được lựa chọn như sau:

- Lấy 20 viên mẫu và cân khối lượng, tách vỏ, làm sạch phần vỏ và cân khối lượng vỏ. Xác định khối lượng trung bình của ruột viên bằng cách lấy trung bình tổng khối lượng trừ đi trung bình khối lượng vỏ. Mẫu được nghiền mịn (nếu cần) và trộn đều.

- Cân một lượng mẫu tương ứng với khối lượng trung bình viên, thêm 10 mL metaphosphoric 3% và 15 mL n-hexan, tiến hành rung siêu âm trong 30 phút cho tan hết và ly tâm trong 15 phút. Loại bỏ hết n-hexan và chuyển dung dịch thu được vào bình định mức 25 mL (tráng cốc ít nhất 3 lần bằng nước deion), định mức tới vạch bằng metaphosphoric 3%. Dung dịch được lọc qua màng lọc có kích thước lỗ 0,45 μm và pha loãng (nếu cần) trước khi tiến hành phân tích trên thiết bị CE-C⁴D.

- Mẫu trắng được sử dụng là mẫu thực phẩm chức năng không chứa vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉.

2.4.2. Đánh giá phương pháp

Tiến hành đánh giá phương pháp với các thông số cơ bản gồm: xây dựng đường chuẩn, giới hạn phát hiện và định lượng, độ chụm thông qua độ lặp lại và độ đúng thông qua độ thu hồi. Các kết quả được đánh giá so sánh với các quy định của AOAC [18].

2.4.3. Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý các số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu điều kiện phân tích đồng thời vitamin B₁, vitamin B₅ và vitamin B₉ bằng phương pháp CE-C⁴D

Khảo sát một số điều kiện phân tách ba vitamin B₁, B₅ và B₉ được thực hiện trên thiết bị CE-C⁴D sử dụng hỗn hợp mẫu chuẩn với nồng độ tương ứng lần lượt là 100, 60 và 60 ppm. Bơm mẫu sử dụng phương pháp thủy động học kiểu xi-phông ở độ cao 15 cm so với đầu còn lại của mao quản. Việc khảo sát được thực hiện theo phương pháp đơn biến, thay đổi một thành phần trong khi giữ nguyên các thành phần còn lại để thu được thông số phù hợp đáp ứng các yêu cầu phân tích.

3.1.1. Khảo sát dung dịch đệm điện di

a) Khảo sát thành phần dung dịch đệm điện di

Các dung dịch đệm điện di được lựa chọn khảo sát bao gồm: Tris, His, Arg với cùng nồng độ 10 mM được điều chỉnh bằng acid acetic (Ace) đến pH = 7,5 và thêm acetonitrile 10%. Kết quả thu được ở hình 1A cho thấy, tín hiệu các chất phân tích không xuất hiện khi đo trên đệm His/Ace. Hệ đệm Tris/Ace cho tín hiệu tất cả ba chất nhưng thời gian phân tích dài và chân pic bị doãng. Trong khi đo, hệ đệm Arg/Ace cho tín hiệu tất cả ba chất với hình dáng pic cân đối, tín hiệu tách tương đối tốt, thời gian phân tích hợp lý. Vì vậy, đệm Arg/Ace được lựa chọn trong nghiên cứu này.

b) Khảo sát pH dung dịch đệm điện di

Giá trị pH là yếu tố quyết định trực tiếp đến quá trình phân ly và phân tách các chất. Khi giá trị pH thay đổi, độ điện di của các chất và tốc độ di chuyển của dòng EOF cũng thay đổi [16]. Việc khảo sát pH được thực hiện trong khoảng pH từ 6,5 đến 8,5 với các giá trị khảo sát là pH = 6,5; pH = 7,5; pH = 8,5. Kết quả được thể hiện trong hình 1B cho thấy, giá trị pH tăng thì thời gian phân tích giảm, đồng thời điện tích pic cũng giảm. Tại pH = 8,5 tín hiệu pic vitamin B₉ thấp còn tại pH = 6,5

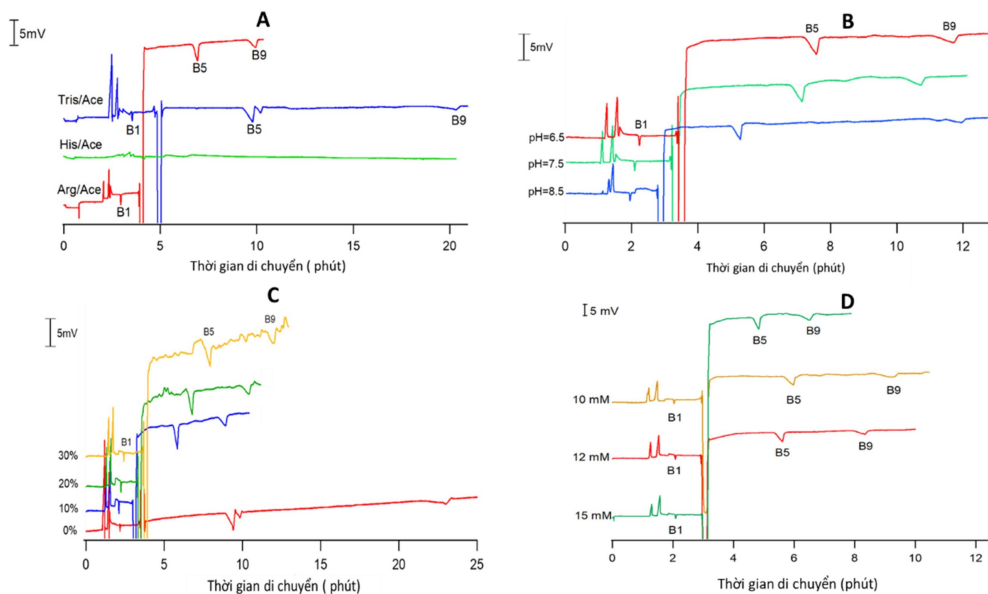
thời gian phân tích lâu hơn. Kết quả khảo sát thu được tại pH = 7,5 cho tín hiệu pic tương đối tốt, tín hiệu nền ổn định, thời gian phân tích hợp lý, diện tích pic lớn. Do vậy, pH = 7,5 được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

c) Khảo sát tỷ lệ thành phần acetonitrile trong dung dịch đệm điện di

Acetonitrile (ACN) được thêm vào dung dịch đệm điện di đã lựa chọn (Arg/Ace) để làm thay đổi độ phân cực của dung dịch đệm, hòa tan tốt hơn các chất phân tích. Kết quả khảo sát tỷ lệ ACN thêm vào dung dịch đệm điện di Arg/Ace được thể hiện ở hình 1C cho thấy, khi không thêm ACN (tỷ lệ 0%), các pic có diện tích pic nhỏ và thời gian phân tích rất dài. Khi thêm ACN với các tỷ lệ 10-30%, tín hiệu các pic lớn hơn và thời gian phân tích ngắn hơn. Trong đó, hệ đệm Arg/Ace thêm ACN 10% cho tín hiệu tốt, thời gian phân tích hợp lý, đường nền ổn định hơn nhiều so với khi thêm ACN 20% và 30%. Do đó, hệ đệm Arg/Ace pH = 7,5 thêm ACN 10% được lựa chọn là tối ưu nhất.

d) Khảo sát nồng độ dung dịch đệm

Việc khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch đệm điện di Arg/Ace/ACN 10% được thực hiện với các giá trị Arg 10 mM, 12 mM và 15 mM.



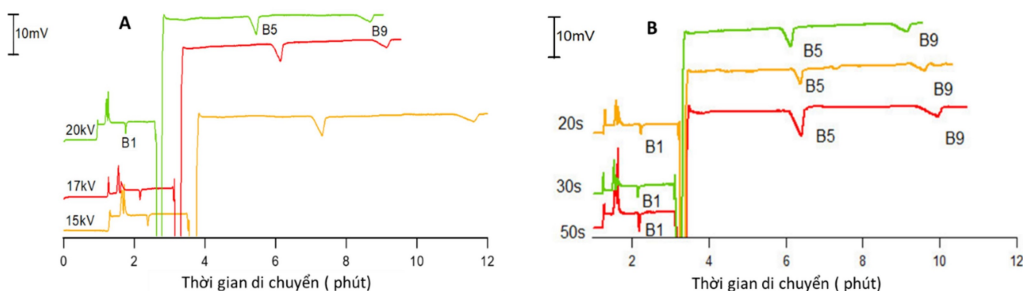
Hình 1. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của A) Thành phần đệm; B) pH đệm; C) Tỷ lệ ACN; D) Nồng độ đệm

Kết quả khảo sát thể hiện ở hình 1D cho thấy, nồng độ đệm 10 mM cho tín hiệu pic lớn nhưng đường nền không ổn định và bị giãn chân pic, thời gian phân tích dài. Đối với nồng độ 15 mM thời gian phân tích ngắn, tuy nhiên đường nền không ổn định và bị dãn rất nhiều sau khi xuất hiện dòng EOF. Có thể thấy rằng, ở nồng độ đệm 12 mM cho hình dáng pic cân đối, tín hiệu tách tương đối tốt, thời gian phân tích hợp lý. Vì vậy, Arg 12 mM được chọn trong nghiên cứu này.

3.1.2. Khảo sát các điều kiện khác

Thế tách là một trong các yếu tố quan trọng, ảnh hưởng đến sự phân tách các chất. Vì vậy, cần phải lựa chọn thế tách phù hợp trong suốt quá trình điện di. Từ kết quả khảo sát ở hình 2A cho thấy, khi thế tách càng tăng thì thời gian phân tích càng ngắn và diện tích pic giảm. Khi thế ở giá trị 15 và 20 kV pic của chất ra không đều và cân đối như ở giá trị thế bằng 17 kV. Ở thế tách 15 kV diện tích pic lớn nhưng thời gian phân tích lâu và chân pic bị doãng. Tại thế bằng 17 kV, các pic thu được cân đối nhất, tín hiệu nền ổn định, diện tích pic lớn, thời gian phân tích hợp lý. Vì vậy, thế tách 17 kV được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

Việc bơm mẫu được thực hiện trên cơ sở phương pháp thủy động học kiểu xi-phông. Kết quả thu được ở hình 2B cho thấy, thời gian bơm mẫu là 30 s cho tín hiệu và đường nền tương đối ổn định, tại thời bơm mẫu là 40 s chân pic bị rộng. Đối với thời gian bơm mẫu 20 s đường nền nhiễu và tín hiệu pic không ổn định. Do đó, thời gian bơm mẫu được lựa chọn là 30 s cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của A) thế tách; B) thời gian bơm mẫu

3.2. Đánh giá phương pháp

3.2.1. Xây dựng đường chuẩn

Các dung dịch dùng để xây dựng đường chuẩn được pha loãng từ các dung dịch chuẩn gốc. Mỗi dung dịch được phân tích 3 lần, diện tích pic trung bình thu được sẽ là số liệu để dựng đường chuẩn sự phụ thuộc của diện tích pic vào nồng độ. Từ đó, đường chuẩn 5 điểm đối với mỗi loại vitamin được xây dựng trong khoảng nồng độ tương ứng như thể hiện trong bảng 1. Kết quả cho thấy diện tích pic và nồng độ các vitamin có mối tương quan tuyến tính tốt với $R^2 > 0,9993$.

Bảng 1. Phương trình đường chuẩn của vitamin B₁, B₅ và B₉

Chất phân tích	Khoảng nồng độ (ppm)	Phương trình đường chuẩn	Hệ số tương quan (R^2)
Vitamin B ₁	1,0 - 100	$Y = 0,0363X - 0,035$	0,9993
Vitamin B ₅	2,0 - 100	$Y = 0,6878X - 0,2019$	0,9994
Vitamin B ₉	2,0 - 100	$Y = 0,3958X + 0,4222$	0,9995

3.2.2. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Để xác định giá trị LOD, tiến hành pha loãng dần dung dịch chuẩn cho đến khi thu được tín hiệu gấp 3 lần so với nhiễu đường nền ($S/N = 3$), giới hạn định lượng (LOQ) ứng với $S/N = 10$. Từ đó, giá trị LOD thu được tương ứng với vitamin B₁, B₅ và B₉ lần lượt là 0,30; 0,50 và 0,60 ppm, giá trị LOQ thu được tương ứng với vitamin B₁, B₅ và B₉ lần lượt là 0,99; 1,65 và 1,98 ppm.

3.2.3. Độ chụm

Để đánh giá độ chụm của phương pháp, tiến hành khảo sát độ lặp lại của vitamin B₁, B₅ và B₉ lần lượt ở 3 mức nồng độ 20, 50 và 100 ppm thêm vào mẫu trắng, mỗi mức nồng độ được tiến hành với 5 lần độc lập. Từ kết quả thu được cho thấy, cả 3 mức nồng độ có độ lệch chuẩn tương đối (RSD) đều nhỏ hơn 2,47 %. Như vậy phương pháp có độ lặp lại đáp ứng yêu cầu theo AOAC [18].

3.2.4. Độ đúng

Độ đúng được đánh giá qua hiệu suất thu hồi của phương pháp phân tích. Để đánh giá hiệu suất thu hồi của phương pháp, hỗn hợp vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ được thêm vào mẫu trắng trước khi xử lý mẫu ở 3 mức nồng độ: 20, 40 và 60 ppm, sau đó tiến hành xử lý mẫu như trong quy trình 2.4.1. Kết quả thu được độ thu hồi của các vitamin B trong nền mẫu từ 94,9% đến 105,0%, đáp ứng yêu cầu cho phép của AOAC ở các mức nồng độ từ 10 ppm (80-110%) đến 1000 ppm (95-105%) [18].

3.3. Phân tích mẫu thực tế

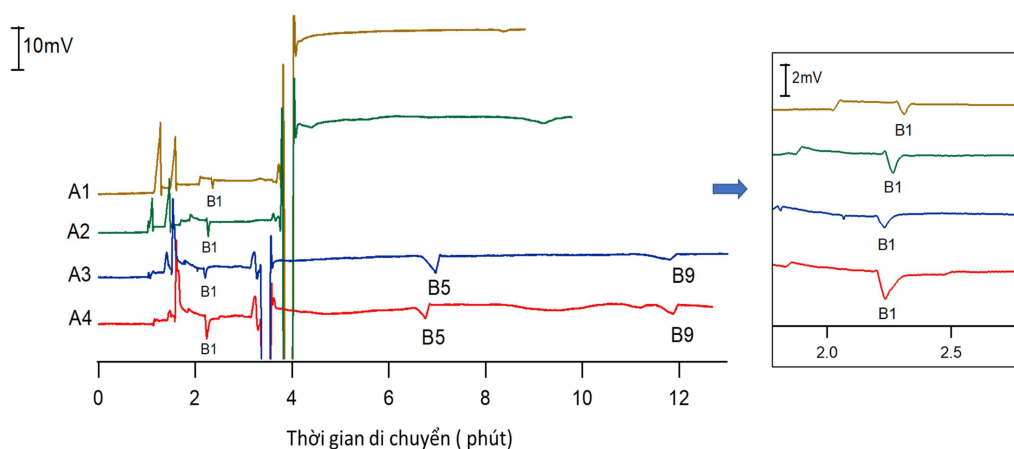
3.3.1. Kết quả phân tích bằng phương pháp CE-C⁴D

Bảng 2. Kết quả phân tích hàm lượng vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ trong các mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp CE-C⁴D

STT	Kí hiệu mẫu	Dạng viên	Chất phân tích	Hàm lượng phân tích bằng CE-C ⁴ D (mg/viên)	Hàm lượng công bố trên nhãn (mg/viên)	Sai khác (%)
1	A1	Viên nang mềm	Vitamin B ₁	1,89	2,00	-5,50
2	A2	Viên nang mềm	Vitamin B ₁	1,95	1,80	+8,33
3	A3	Viên nang mềm	Vitamin B ₁	1,45	1,50	-3,33
			Vitamin B ₅	15,54	15,00	+3,60
			Vitamin B ₉	0,45	0,40	+12,50
4	A4	Viên nang cứng	Vitamin B ₁	1,35	1,50	-10,00
			Vitamin B ₅	2,65	3,00	-11,67
			Vitamin B ₉	0,92	1,00	-8,30

Phương pháp đã được áp dụng để phân tích 4 mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe (A1 - A4) thu thập ngẫu nhiên trên thị trường Hà Nội. Các mẫu sau khi xử lý như ở mục 2.4.1 được tiến hành phân tích xác định hàm lượng vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ bằng phương pháp thêm chuẩn. Kết quả được thể hiện trong bảng 2 và hình 3.

Kết quả cho thấy, hàm lượng vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ trong bốn mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe phân tích được dao động trong khoảng từ 0,45 mg/viên đến 15,54 mg/viên. So với công bố trên nhãn, hàm lượng này có sự sai khác trong khoảng từ -11,67% đến +12,50%.



Hình 3. Điện di đồ phân tích các vitamin B trong các mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe

3.3.2. Kết quả phân tích đối chứng bằng phương pháp UPLC-MS/MS

Để kiểm chứng kết quả phân tích bằng phương pháp CE-C⁴D, bốn mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe đã được gửi phân tích đối chứng bằng phương pháp UPLC-MS/MS [10] do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia thực hiện (số hiệu Vilas 203, mã phương pháp xác định vitamin B₅: NIFC.02.M.19 (AOAC 2012.16), mã phương pháp xác định vitamin B₉: NIFC.02.M.18 (AOAC 2013.13)). Phương pháp đối chứng UPLC-MS/MS sử dụng cột sắc ký lỏng ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm × 2,1 mm × 1,7 μm, 130 Å), pha động A (amonit format 10mM) và B (methanol), thời gian lưu của các vitamin B₁, B₅ và B₉ lần lượt là 15,74; 9,40 và 11,75 phút. Kết quả được thể hiện trong bảng 3.

Kết quả thu được sai khác giữa hai phương pháp dao động trong khoảng -10,53% đến +8,66% cho thấy phương pháp CE-C⁴D hoàn toàn đáng tin cậy và có tiềm năng sử dụng để xác định hàm lượng của một số vitamin B trong mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Bảng 3. Kết quả phân tích đối chứng bằng phương pháp HPLC-FLD

STT	Kí hiệu mẫu	Dạng viên	Chất phân tích	Hàm lượng phân tích bằng CE-C ⁴ D (mg/viên)	Hàm lượng phân tích bằng HPLC (mg/viên)	Sai khác (%)
1	A1	Viên nang mềm	Vitamin B ₁	1,89	2,00	-5,66
2	A2	Viên nang mềm	Vitamin B ₁	1,95	1,80	+8,00
3	A3	Viên nang mềm	Vitamin B ₁	1,45	1,45	+0,00
			Vitamin B ₅	15,54	15,60	-0,39
			Vitamin B ₉	0,45	0,50	-10,53
4	A4	Viên nang cứng	Vitamin B ₁	1,35	1,34	+0,74
			Vitamin B ₅	2,65	2,43	+8,66
			Vitamin B ₉	0,92	0,934	-1,51

4. KẾT LUẬN

- Nghiên cứu đã thành công trong việc xây dựng phương pháp CE-C⁴D nhằm xác định hàm lượng vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ trong mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

- Phương pháp đã được thẩm định về độ tuyến tính trong khoảng đường chuẩn, độ chụm và độ đúng đáp ứng yêu cầu của AOAC.

- Phương pháp đã được áp dụng để xác định hàm lượng vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ trong 4 mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe cho sai khác với nhãn công bố trong khoảng -11,67% đến +12,50%. Kết quả này cũng đã được đối chứng với phương pháp UPLC-MS/MS cho sai khác giữa hai phương pháp nhỏ hơn 10,53%, cho thấy phương pháp CE-C⁴D đáng tin cậy, có tiềm năng áp dụng để xác định vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉ trong mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Lời cảm ơn: Học viên cao học Đặng Thị Huyền My được tài trợ bởi [Nhà tài trợ] thuộc Tập đoàn Vingroup và hỗ trợ bởi chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), Viện Nghiên cứu Dữ liệu lớn (VinBigdata), mã số VINIF.2021.ThS56.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Satyanarayana U. and Chakrapani U., *The vitamins*, Biochemistry (Revised Third Ed), 2006, 7:116-160.
2. World Health Organization (WHO) and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*, World Health Organization (WHO), Geneva, Switzerland, Second edition, 2004.
3. LeBlanc J. G., *Introductory chapter: B-group vitamins*, B Group Vitamins Current Uses and Perspectives, 2018, p. 3-5.
4. Munsell H. E., *Vitamins and their occurrence in foods*, The Milbank Memorial Fund Quarterly, 1940, **18**(4):311-344.
5. Jingsu Xu, Stefano Patassini, Paul Begley, Stephanie Church, Henry J. Waldvogel, Richard L.M. Faull, Richard D. Unwin and Garth J.S. Cooper, *Cerebral deficiency of vitamin B₅ (D-pantothenic acid; pantothenate) as a potentially-reversible cause of neurodegeneration and dementia in sporadic Alzheimer's disease*, Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, **527**(3):676-681.
6. Siaw-Cheok Liew, *Folic acid and diseases - supplement it or not?*, Rev. Assoc. Med. Bras., 2016, **62**(1):90-100.
7. George Mateljan, *The world's healthiest foods*, George Mateljan Foundation, 2016.
8. Teixeira, Marcos F. S., Segnini, Aline, Moraes, Fernando C., Marcolino-Junior, Luiz H., *Determination of vitamin B6 in pharmaceutical preparations by cyclic voltammetry at a copper (II) hexacyanoferrate (III) modified carbon paste electrode*, Journal of the Brasileira Chemical Society, 2003, **14**(2):316-321.
9. Westmacott K. L., A. Crew, O. Doran and J.P. Hart, *A novel electroanalytical approach to the measurement of B vitamins in food supplements based on screen-printed carbon sensors*, Talanta, 2018, **181**:13-18.
10. Nguyen Quang Huy, Anh Quoc Hoang, Thi My Hanh Truong, Thi Diu Dinh, Thi Thuy Le, Thi Huyen Trang Luu, Viet Chien Dinh, Thi Minh Thu Nguyen, Thi Trang Vu and Thi Anh Huong Nguyen, *Development of simple analytical method for B-Group vitamins in nutritional products: enzymatic digestion and UPLC-MS/MS quantification*, Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2021, **2021**:552-562.
11. Daniela Hampel, Emily R. Yorka, Lindsay H. Allen, *Ultra-performance liquid chromatography tandem mass-spectrometry (UPLC-MS/MS) for the rapid, simultaneous analysis of thiamin, riboflavin, flavin adenine dinucleotide, nicotinamide and pyridoxal in human milk*, Journal of Chromatography B, 2012, **903**:7-13.

12. Jin Tan, Rong Li and Zi-Tao Jiang, *Determination of thiamin (vitamin B₁) in pharmaceutical tablets and human urine by titania- based ligand- exchange hydrophilic*, Anal. Methods, 2011, **3**:1568-1573.
13. Fotsing L., M. Fillet, I. Bechet, Ph. Hubert and J. Crommen, *Determination of six water-soluble vitamins in a pharmaceutical formulation by capillary electrophoresis*, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1997, **15**:1113-1123.
14. Franco Marina, Jasionowska Renata, Salvatore Elisa, *Application of CZE method in routine analysis for determination of B-complex vitamins in pharmaceutical and veterinary preparations*, International Journal of Analytical Chemistry, 2012, **4**:592-602.
15. Matthias Schreiner, Ebrahim Razzazi, Wolfgang Luf, *Determination of water-soluble vitamins in soft drinks and vitamin supplements using capillary electrophoresis*, Nahrung/Food, 2003, **47**(4):243-247.
16. Lê Thị Hồng Hảo, Phạm Thị Ngọc Mai, Nguyễn Thị Ánh Hoàng, Nguyễn Văn Anh, Phạm Tiến Đức, Vũ Thị Trang, *Ứng dụng phương pháp điện di trong phân tích thực phẩm*, Nhà Xuất bản Khoa học và kỹ thuật, 2016.
17. Thi Anh Huong Nguyen, et al., *Simple semi-automated portable capillary electrophoresis instrument with contactless conductivity detection for the determination of β -agonists in pharmaceutical and pig-feed samples*, Journal of Chromatography A, 2014, **1360**:305-311.
18. AOAC Official Methods of Analysis, *Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements*, 2012.

SUMMARY

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SOME B-GROUP VITAMINS IN DIETARY SUPPLEMENT SAMPLES BY CE-C⁴D

The simultaneous determination of vitamin B₁, vitamin B₅, and vitamin B₉ in dietary supplements was investigated by using capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C⁴D). Optimal conditions included: fused silica capillary inner diameter (ID) 50 μ m and total length of 50 cm (effective length of 30 cm); electrolyte solution of 12 mM Arginine/Acetic acid/ 10% Acetonitrile; pH = 7.5; hydrodynamic injection at height of 15 cm in 30 s; separation voltage of 17 kV. Calibration curves were constructed over the range from 1.0 to 100 ppm (vitamin B₁) and 2.0 ppm to 100 ppm (vitamin B₅, vitamin B₉) giving good linear correlation coefficients ($R^2 > 0.999$). The limits of detection (LOD) for vitamin B₁, B₅ and B₉ were 0.3, 0.5 and 0.6 ppm, respectively. The recoveries were ranging from 94.9% to 105.0%. The developed method was applied to simultaneously determine vitamin B₁, B₅ and B₉ in 4 dietary supplement samples.

The results of these vitamins in the samples differ from their labels by -11.67% to +12.50%. The CE-C⁴D results were compared with those obtained by reference UPLC-MS/MS method, showing good agreement between the two methods (relative error < 10.53%).

Keywords: Vitamin B₁, vitamin B₅, vitamin B₉, CE-C⁴D, dietary supplements, thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Nhận bài ngày 31 tháng 8 năm 2022

Phản biện xong ngày 13 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 19 tháng 11 năm 2022

⁽¹⁾ Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học quốc gia Hà Nội

⁽²⁾ Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên

⁽³⁾ Trung tâm Chống độc, Bệnh viện Bạch Mai

Liên hệ: Nguyễn Thị Ánh Hương

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học quốc gia Hà Nội, Việt Nam

19 Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Việt Nam

Điện thoại: 0946593969; Email: nguyenthianhhuong@hus.edu.vn