

Xác định đồng thời cyanocobalamin và methylcobalamin trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng sắc ký lỏng ghép khối phổ hai lần (LC-MS/MS)

Trần Nhật Minh¹, Lê Thị Hồng Hảo¹, Vũ Thị Trang¹, *Trịnh Yên Nhi¹, Mai Thùy Linh²

¹Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia, Hà Nội, Việt Nam

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG Hà Nội, Hà Nội, Việt Nam

Tóm tắt

Cyanocobalamin (CNCbl) và methylcobalamin (MeCbl) là hai dạng vitamin B12 phổ biến nhất trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe, nhưng đều kém bền và khó định lượng chọn lọc bằng các kỹ thuật truyền thống. Nghiên cứu này đã xây dựng và thẩm định một phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ hai lần (LC-MS/MS) để xác định đồng thời CNCbl và MeCbl trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Các điều kiện sắc ký được tối ưu hóa như sau: chất phân tích được tách trên cột C18 với pha động gồm amoni format 20 mM và methanol theo chương trình gradient, tốc độ dòng 0,2 mL/phút, nguồn ion hóa phun điện tử chế độ dương và theo dõi đa phản ứng (MRM). Điều kiện xử lý mẫu được lựa chọn gồm: dung dịch natri acetat 50 mM (pH 4) làm dung môi chiết, lắc 30 phút, thủy phân ở 100 °C trong 60 phút và làm sạch – làm giàu trên cột ái lực miễn dịch EASI-EXTRACT với 3 mL methanol rửa giải. Ở điều kiện đã chọn, đường chuẩn tuyến tính ($R^2 > 0,995$) trong khoảng 0,005–2 mg/L đối với CNCbl và 0,1–20 mg/L đối với MeCbl; độ thu hồi đạt 95,9–106,9% áp dụng với 2 nền mẫu dạng lỏng và dạng rắn, với độ lặp lại và độ tái lập nội bộ đều nằm trong giới hạn của AOAC. Phương pháp đã được áp dụng để phân tích 10 mẫu thực tế lưu hành trên thị trường (05 mẫu viên nang và 05 mẫu siro); hàm lượng MeCbl xác định được đạt trung bình 95,4% so với mức công bố trên nhãn, cho thấy phương pháp phù hợp cho kiểm soát chất lượng vitamin B12 trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Từ khóa: vitamin B12, cyanocobalamin, methylcobalamin, LC-MS/MS, thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Simultaneous determination of cyanocobalamin and methylcobalamin in health supplements by liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

Tran Nhat Minh¹, Le Thi Hong Hao¹, Vu Thi Trang¹, *Trinh Yen Nhi¹, Mai Thuy Linh²

¹National Institute for Food Control, Hanoi, Vietnam

²Faculty of Chemistry, VNU University of Science, Hanoi, Vietnam

Abstract

Cyanocobalamin (CNCbl) and methylcobalamin (MeCbl) are the two most common forms of vitamin B12 in health supplements, yet both are labile and difficult to quantify selectively by conventional techniques. This study developed and validated a liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the simultaneous determination of CNCbl and MeCbl in health supplements. The chromatographic conditions were optimised as follows: the analytes were separated on a C18 column with a mobile phase of 20 mM ammonium formate and methanol under a gradient programme at a flow rate of 0.2 mL/min, with positive-mode electrospray ionisation and multiple reaction monitoring (MRM). The sample treatment conditions selected were: 50 mM sodium acetate solution (pH 4) as the extraction solvent, 30 min shaking, hydrolysis at 100 °C for 60 min, and clean-up–enrichment on an EASI-EXTRACT immunoaffinity column eluted with 3 mL methanol. Under the selected conditions, the calibration curves were linear ($R^2 > 0.995$) over 0.005–2 mg/L for CNCbl and 0.1–20 mg/L for MeCbl; recoveries of 95.9–106.9% were obtained on two matrices, liquid and solid, with repeatability and intermediate precision both within the AOAC limits. The method was applied to the analysis of 10 real samples circulating on the market (05 capsule samples and 05 syrup samples); the MeCbl content determined averaged 95.4% of the level declared on the label, showing that the method is suitable for the quality control of vitamin B12 in health supplements.

Keywords: vitamin B12, cyanocobalamin, methylcobalamin, LC-MS/MS, health supplements.

*Tác giả liên hệ: Trịnh Yên Nhi. Viện Kiểm Nghiệm Vệ Sinh An Toàn Thực Phẩm Quốc Gia, 65 Phố Phạm Thận Duật, Hà Nội, Việt Nam. Email: nhi163634@gmail.com

*Corresponding author: Trịnh Yên Nhi. National Institute for Food Control, 65 Pham Than Duat Street, Hanoi, Vietnam. Email: nhi163634@gmail.com