

THE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF THE TWO ISOMERS OF ALANINE, α -ALANINE AND β -ALANINE BY ZIC-HILIC

Diem-My Huynh-Lam^{1,2}, *Thuy-Luyen Nguyen-Thi*³, *Anh-Mai Nguyen*^{1,2}

¹Faculty of chemistry, University of Science, VNU-HCMC, Vietnam

²The central laboratory analysis, University of Science, VNU-HCMC, Vietnam

³Faculty of Geology, University of Science, VNU-HCMC, Vietnam

hldmy@hcmus.edu.vn, nttluyen@hcmus.edu.vn, namai@hcmus.edu.vn

ABSTRACT

In this study, a simple and rapid method for the simultaneous determination of the two isomers of alanine, α -alanine and β -alanine was evaluated. β -alanine is popular nutritional food supplement for improving athletic performance and building lean muscle mass in younger adults, as well as physical performance in elderly adults. Using a zwitterion stationary phase in hydrophilic interaction liquid chromatography (ZIC-HILIC) the analysis for underivatized analytes was developed with HPLC-DAD and HPLC-MS/MS systems. On HPLC-DAD the compounds were completely separated in isocratic mode. The calibration curve was linear ($R^2 > 0.999$) within the range 1-30 $\mu\text{g/mL}$. High precision can be achieved with %RSD of 3.4 and 2.9% for α -alanine and β -alanine respectively and they can be quantified at levels as low as 0.955 and 0.837 $\mu\text{g/mL}$ for α -alanine and β -alanine, respectively. The developed method was applied successfully for the analysis of β -alanine in three food supplements. In addition, we also carried out the experiments to evaluate the simultaneous separation of α -alanine and β -alanine on the HPLC-MS/MS system. The ion fragmentation and collision energy were key parameters to optimized. The HPLC-MS/MS method had good precision (%RSD < 10%) and the correlation coefficient of calibration curve, R^2 , was greater than 0.995 in the concentration range of 0.05-2.0 $\mu\text{g/mL}$. This study showed that ZIC-HILIC coupled with DAD or MS/MS is an effective, cheap and rapid technique to analyze underivatized α -alanine and β -alanine, simultaneously in the food supplements.

Key words: α -alanine, β -alanine, ZIC-HILIC, hydrophilic interaction chromatography

PHÂN TÍCH ĐỒNG PHÂN VỊ TRÍ α -ALANIN VÀ β -ALANIN BẰNG CỘT ZIC-HILIC

Huỳnh Lâm Diễm My^{1,2}, Nguyễn Thị Thùy Luyên³, Nguyễn Ánh Mai¹

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

²Phòng Thí nghiệm Phân tích Trung tâm, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên,
ĐHQG-HCM

³Khoa Địa chất, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

hldmy@hcmus.edu.vn, nttluyen@hcmus.edu.vn, namai@hcmus.edu.vn

Tóm tắt:

Nghiên cứu này đã phát triển thêm một ứng dụng mới của pha tĩnh ZIC-HILIC theo cơ chế tương tác ưa nước nhằm mục đích phân tách đồng phân vị trí α -alanin và β -alanine. β -alanin là một loại thực phẩm chức năng thường được dùng cho các vận động viên, giúp tăng cơ bắp cho người trẻ và khả năng vận động đối với người già. Cả hai amino acid này sẽ được phân tích trực tiếp trên cột ZIC-HILIC kết nối với hai loại đầu dò là UV và MS/MS. Trên hệ HPLC-UV α -alanin và β -alanin được phân tách hoàn toàn, phương pháp có độ lặp (%RSD) tương ứng là 3.4% và 2.9%, và giới hạn định lượng (LOQ) là 0.955 và 0.837 $\mu\text{g/mL}$. Khoảng tuyến tính được thiết lập cho α -alanin từ 0.9–28.0 $\mu\text{g/mL}$ với hệ số tương quan $R^2 = 0.9995$, cho β -alanin từ 0.8–24.8 $\mu\text{g/mL}$ với $R^2 = 0.9992$. Phương pháp được ứng dụng thành công trên nền 3 nền mẫu thực phẩm chức năng. Thêm vào đó, nhóm nghiên cứu cũng đánh giá sự phân tách đồng thời α -alanin và β -alanin khi sử dụng cột ZIC-HILIC với đầu dò MS/MS. Các thông số khảo sát với hệ HPLC-MS/MS bao gồm phân mảnh ion và năng lượng va đập. Độ ổn định của thiết bị, đường chuẩn đạt kết quả đạt tốt với %RSD < 10% và đường chuẩn có hệ số tương quan R^2 lần lượt là 0.9968 và 0.9953 cho α -alanin và β -alanin trong khoảng nồng độ từ 0.05–2.0 $\mu\text{g/mL}$. Nghiên cứu này cho thấy sử dụng cột ZIC-HILIC với đầu dò DAD và MS/MS là một công cụ hữu hiệu và đơn giản để xác định trực tiếp α -alanine, β -alanine trong thực phẩm chức năng.

Key words: α -alanine, β -alanine, ZIC-HILIC, sắc ký tương tác ưa nước