

膳食补充剂中生育酚的正相HPLC方法的方法迁移

Lise Gauthier, Kimberly Martin, Paula Hong

Waters Corporation

摘要

随着膳食补充剂越来越受欢迎，人们需要确保产品符合其标签声称内容。但是，许多复合维生素制剂中同时含有水溶性和脂溶性维生素，这给采用单一色谱模式进行分析带来了挑战。由于维生素的化学特性多样，因此通常需要使用多种色谱模式进行分析。分析强极性的水溶性维生素时，通常采用反相(RP)或亲水作用色谱(HILIC)，分析非极性的脂溶性维生素则首选正相(NP)色谱模式¹。

对于等度的正相方法，随着系统更新和替换，在HPLC系统之间迁移方法的能力至关重要。由于正相色谱的特殊性（包括需要使用非极性溶剂以及仪器设计差异），迁移方法时的仪器设置和运行可能会带来挑战；因此在系统之间迁移方法时，识别并控制这些差异非常重要。

本研究介绍了从传统HPLC系统到现代Alliance™ iS HPLC System的方法迁移过程。我们在两个系统之间迁移分离四种维生素E生育酚的正相方法，所得结果满足定义的方法迁移可接受标准，特别是峰面积%RSD和分离度的系统适应性要求。迁移方法后，又使用该方法测定膳食补充剂中的生育酚，证明了该方法定量生育酚的能力。

优势

- 传统正相HPLC方法可轻松迁移至Alliance iS HPLC System
 - 本应用纪要详述的正相方法可用于定量维生素补充剂中的生育酚
-

简介

分离极性和亲水性化合物以及同分异构体时，正相HPLC是一种很有价值的技术。正相HPLC需要结合使用极性固定相与非极性或中等极性的流动相。正相HPLC常用于分析水溶性不高的化合物。这些化合物可直接萃取到非极性溶剂中进行分析，因此样品前处理方式与正相HPLC兼容。相比之下，如果采用反相(RP)色谱分离这些化合物，就需要额外进行往往相当耗时的样品前处理步骤，包括将样品挥干并复溶于兼容反相分离的溶剂中。

正相和反相色谱分析通常可以在同一套HPLC系统上进行，但可能需要对系统做些修改，将标准配置的系统改为正相配置。这是由于结构材料不兼容正相溶剂。具体而言，可能需要更换单向阀、管路、泵密封件等硬件。此外，在切换模式时，必须先转换溶剂，以免出现溶剂不混溶的问题。

维生素E是一类脂溶性化合物的统称，它们具有特殊的抗氧化特性。有四种生育酚（ α 、 β 、 γ 、 δ ）具有维生素E活性。天然来源的膳食补充剂中含有这四种生育酚，然而， α -生育酚才是唯一被认为可满足人类营养需求的形式²。

本研究开发了一种测定膳食补充剂中生育酚的正相方法。该方法可在两套传统HPLC系统上（系统1=Waters Alliance e2695系统；系统2=其他供应商的系统Y）正常运行。随后，我们将该方法成功迁移到了现代系统Alliance iS HPLC System。方法迁移成功的标准是满足为该方法建立的系统适应性要求。我们还制备了膳食补充剂样品并使用Alliance iS HPLC System进行分析，将所得结果与标签声称内容做了比较。

实验

标准品制备

使用购自MilliporeSigma的标准品制备含四种生育酚（ α 、 β 、 γ 、 δ ）的工作标准溶液。用己烷将生育酚稀释至最终浓度0.2 mg/mL。

方法条件

液相色谱条件

液相色谱系统：	Alliance e2695系统
	传统系统Y

Alliance iS HPLC System

检测:	2489 UV/Vis检测器 可变波长检测器(VWD) TUV 检测器
波长:	295 nm
采集速率:	10 Hz
样品瓶:	LCGC认证透明玻璃12 x 32 mm螺纹 颈口全回收样品瓶, 带瓶盖和预切割 PTFE/硅胶隔垫, 容积2 mL (P/N: 186000307C)
色谱柱:	XBridge™ BEH™ HILIC色谱柱, 5 μm 4.6 x 150 mm (P/N: 186004453)
柱温:	40 °C
样品温度:	10 °C
进样体积:	30 μL
流速:	1.3 mL/min
流动相:	95:5己烷/乙酸乙酯, 含0.05%乙酸
洗针液:	90:10己烷/异丙醇

数据管理

结果与讨论

运行该方法之前，将各系统从反相模式转换为正相模式。转换时，我们考虑并控制了仪器设计的差异，这包括对选定系统的硬件做一些必要的更改，以便运行正相溶剂。Alliance iS HPLC System的单向阀和废液管路很容易就能更换，而系统Y不仅需要更换单向阀和管路，还需要更换泵密封件。在加入正相溶剂前，所有系统都先用异丙醇冲洗，除去水性溶剂。

系统适应性标准基于定量方法的要求制定，包括每种生育酚的分离度和峰面积精密度。工作标准溶液重复进样六次，然后计算每种生育酚的峰面积精密度和USP分离度，得到在每套系统上进行分析的系统适应性结果。各系统的代表性色谱图和结果如图1、图2以及表1所示。

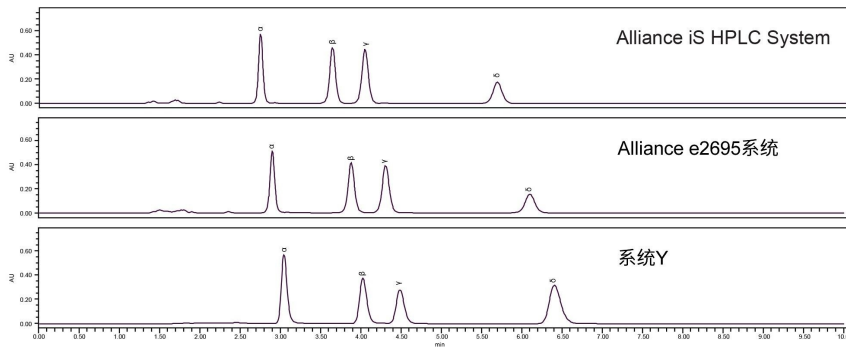


图1.在Alliance iS HPLC System、Alliance e2695系统和系统Y上分析标准品得到的代表性色谱图

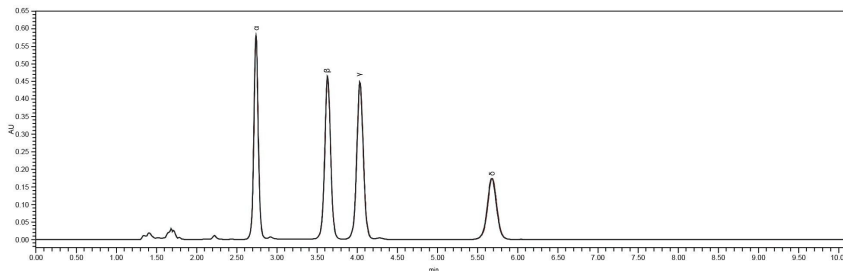


图2. Alliance iS HPLC System上六次系统适应性进样的叠加谱图

参数	可接受标准	Alliance e2695 系统	系统Y	Alliance iS HPLC System
α峰面积%RSD	≤2.0%	0.1	0.2	0.1
β峰面积 %RSD	≤2.0%	0.1	0.2	0.1
γ峰面积%RSD	≤2.0%	0.1	0.2	0.1
δ峰面积%RSD	≤2.0%	0.0	0.1	0.0
USP分离度(β-α)	≥5.0	7.0	6.7	7.8
USP分离度(γ-β)	≥1.5	2.7	2.7	2.9
USP分离度(δ-γ)	≥7.0	8.5	8.9	9.2

表1.系统适应性结果

几套系统获得的色谱结果相当。每套系统也都满足系统适应性标准。各系统得到的峰面积精密度相似，Alliance iS HPLC System和传统Alliance e2695分析标准品中所有生育酚的精密度相当。Alliance iS HPLC System上的USP分离度略高一些。由于所得结果符合指定的可接受标准，表明方法已成功迁移至Alliance iS HPLC System。

将方法成功迁移至Alliance iS HPLC System后，我们使用该方法测定了两种不同剂型的膳食补充剂（天然来源的复合维生素片剂和维生素E软胶囊）中的生育酚。使用正相HPLC进行分析对于样品前处理而言很有利。将样品基质中的生育酚萃取到非极性溶剂（己烷）中，就可以直接进样至系统，无需额外进行繁琐的样品前处理步骤。该分析采用单点外标法定量。各样品的色谱图如图3和4所示。

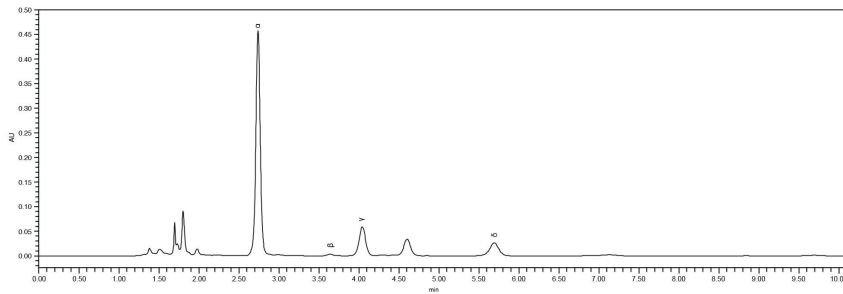


图3. Alliance iS HPLC System分析复合维生素样品得到的色谱图

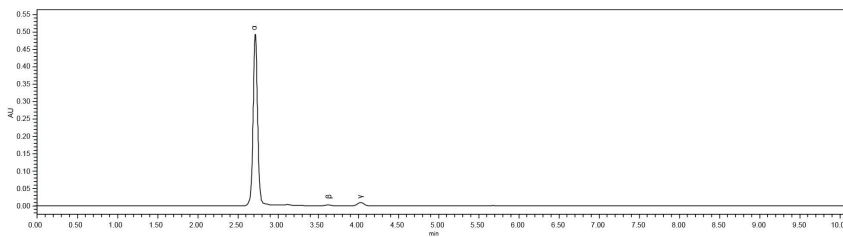


图4. Alliance iS HPLC System分析维生素E软胶囊样品得到的色谱图

我们将每种产品的 α -生育酚定量结果与标签声称值做了比较。结果表明，该方法能够定量膳食补充剂中的生育酚（即 α -生育酚）。结果如表2所示。

样品	各剂型的标签声称量 (mg)	各个剂型的结果 (mg)	标签声称量百分比
复合维生素片剂	2	1.8	91%
维生素E软胶囊	268	309	115%

表2. Alliance iS HPLC System分析样品中 α -生育酚的定量结果

结论

随着旧系统更新和替换为新系统，在不同HPLC系统之间迁移方法的能力至关重要。本研究将测定膳食补充剂中生育酚的正相方法从传统系统成功迁移到了Alliance iS HPLC System，然后使用该方法测定了两种膳食补充剂样品中的生育酚。

Alliance iS HPLC System符合方法迁移的可接受标准（定义为满足系统适应性要求），所得色谱图和结果与传统系统相当。样品结果证明，该方法能够定量膳食补充剂中的生育酚。综上，本研究的结果表明分析方法可以轻松迁移至Alliance iS HPLC System，还表明使仪器资产紧跟技术前沿可以带来诸多性能优势。

参考资料

1. Eric S. Grumbach and Kenneth J. Fountain. [Comprehensive Guide to HILIC Hydrophilic Interaction Chromatography](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/education/715002531-comprehensive-guide-to-hilic-hydrophilic-interaction-chromatogra.html). <<https://www.waters.com/nextgen/global/shop/education/715002531-comprehensive-guide-to-hilic-hydrophilic-interaction-chromatogra.html>> Waters Corporation, 2010.
2. National Institutes of Health Office of Dietary Supplements.(2021).Vitamin E [Fact Sheet]. [https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-HealthProfessional for health professional/](https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-HealthProfessional%20for%20health%20professional/) <<https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-HealthProfessional%20for%20health%20professional/>> .

特色产品

Alliance iS HPLC System <

<https://www.waters.com/nextgen/global/products/chromatography/chromatography-systems/alliance-is-hplc-system.html>>

2489紫外/可见光(UV/Vis)检测器 <<https://www.waters.com/1001362>>

Empower色谱数据软件(CDS) <<https://www.waters.com/10190669>>

720008232ZH, 2024年2月



© 2024 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie Cookie 设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号