安捷伦应用解决方案

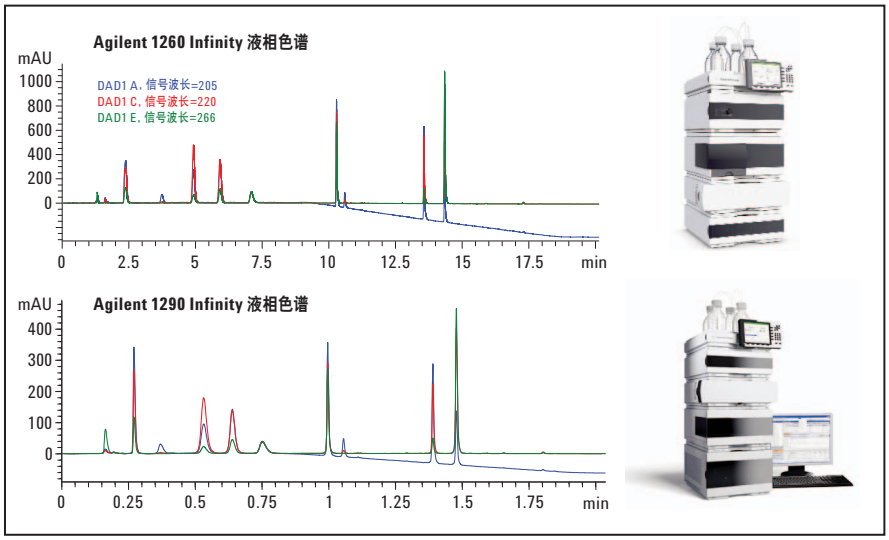
用于营养标签的复合维生素片中的水溶性维生素的分析方法

应用报告

食品

作者

Siji Joseph,
Agilent Technologies，Inc.
Bangalore，India



摘要

在本应用报告中描述了一种定性和定量分析水溶性维生素的应用解决方案。开发了一种单一、耐用的反相高效液相色谱 (RP-HPLC) 方法，与其他的许多传统方法只能对各组分单独定量分析不同，本方法可以同时测定 10 种不同维生素。使用 Agilent Poroshell EC-C18 色谱柱和 Agilent 1260 Infinity 液相色谱系统可以实现分离和定量。在波长 200-640 nm 的范围内可以使用二极管阵列监测器 (DAD) 进行检测。因为不同维生素的最大吸收波长不同，故需要在 8 种不同的波长下进行数据采集。这种方法部分有效，适用于复合维生素片的常规营养标注分析。建立了每种维生素的检测限 (LOD)，定量限 (LOQ) 和线性范围。使用安捷伦方法转换软件还可以将该方法有效的转换成较快的使用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统的超高压液相色谱 (UHPLC) 方法。

Agilent Technologies

前言

维生素是一类小分子化合物，需要量不大但确非常重要，对于保持正常的健康和生长具有特殊的作用。因为维生素不是由人体自然合成的，因此必须保持平衡的饮食以保证维生素的摄取水平。然而，有时候饮食习惯会造成维生素的缺乏。在这种情况下，市售复合维生素片可以适当对其进行补充。虽然缺乏维生素会引起的疾病，但是过量的维生素也会损害身体健康。食品和药物管理局 (FDA) 要求对复合维生素片中的维生素进行标注。这就尤为需要开发一种能够定量分析维生素进行 FDA 营养标注的有效方法了。

许多不同的传统分析方法可以分析单个或少量的维生素。其中大多数方法需要繁重的，长时间的样品制备，而且是非特异性的。由于不同维生素的化学性质不同，因此同时进行可靠的多种维生素分析是非常困难的。而且由于维生素片中的浓度范围较宽，从几微克到几十毫克，这样就使分析工作更加难以完成了。另外，某些维生素还具有稳定性、基质复杂性以及溶解性等问题。

本文描述了一种简单、可靠的采用紫外检测同时测定 10 种水溶性维生素的方法，只需 20 分钟即可完成。

方法

仪器和软件

采用 Agilent 1260 Infinity 液相色谱系统，包括以下部分：

- Agilent 1260 系列四元泵和真空脱气机 (G1311B)
- Agilent 1260 系列高效自动进样器 (G1367E)
- Agilent 1260 系列柱温箱 (G1316C)
- Agilent 1260 系列二级管阵列检测器 (G4212B)，配置最大光强流通池 (光程 60 mm) (G421260007)
- Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱 3.0 mm × 150 mm，2.7 µm（部件号 693975302）
- 使用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统开发并实验超高液相色谱分析方法
- Agilent 1290 Infinity 二元泵配备内置的真空脱气机 (G4220 A) 以及 100 µL Jet Weaver 混合器
- Agilent 1290 Infinity 高效自动进样器 (G4226A)
- Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)
- Agilent 1290 Infinity 二级管阵列检测器 (G4212A)，配置最大光强流通池 (体积 1.0 µL，光程 10 mm) (G421260008)
- Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱，内径 2.1 mm，长 75 mm，采用 2.7 µm 粒径填料填装 (部件号 697775902)

两个系统控制都采用 Agilent ChemStation B.04.02 软件。

试剂和材料

所有的化合物和溶剂均为色谱级纯度，超纯水使用 Milli Q 水纯化系统 (Millipore Elix 10 model, USA) 制得。乙腈梯度级别，购自 LabScan 公司 (Bangkok, Thailand)。磷酸氢二钾购自 Fluka 公司 (Germany)。磷酸购自 Fluka 公司 (Switzerland)，氢氧化钠购自 Sigma 公司 (Germany)。标准样品抗坏血酸 (C)、烟酸 (B3)、泛酸钙 (B5)、吡哆醇 (B6)、烟酸胺 (B3)、硫胺 (B)、叶酸 (B9)、生物素 (B7)、氰钴胺 (B12) 和核黄素 (B2) 购自 Aldrich 公司 (India)。

色谱参数

反相液相色谱和超高液相色谱仪的色谱参数列于表 1 中。

水溶性维生素标准品

维生素标准品抗坏血酸,烟酸,泛酸钙,吡哆醇,烟酸胺,硫胺,叶酸,生物素,氰钴胺和核黄素的配制：分别准确称量 50 mg 左右的维生素粉末，转移到 25mL 标准容量瓶。用 Milli Q 水，定容配成 2.0 mg/mL (2000 ppm) 的贮备液。如有需要，超声溶解。作为游离酸叶酸水溶性很差。需要将叶酸转化成叶酸盐，首先将标准品溶于 20 mL Milli Q 水，后滴加 0.25 M 氢氧化钠至叶酸刚好转化成叶酸钠为止。然后使用 Milli Q 水配制成浓度为 2.0 mg/mL 的溶液。采用相似的方法制备生物素和核黄素标准溶液。不用时，水溶性维生素的贮备液保存于 + 4.0 °C。取每种标准品溶液大概 200 µL 混合制成 2000 µL 水溶性维生素的添加混标，其中每个组分浓度 200 ppm。使用 200 ppm 的添加混标和流动相 A 稀释配制得到不同线性浓度。

样品制备

将某一欧洲重要品牌的三个复合维生素片分别溶于 200 mL 水，超声。加入最少量的 0.25 M NaOH 以解决某些维生素的溶解性问题。之后使用 0.25 µm 安捷伦 Econofilter 注射过滤器过滤样品溶液，用于营养标注和回收率分析。

参数	Agilent 1260 Infinity 液相色谱	Agilent 1290 Infinity 液相色谱
柱温	35 °C	35 °C
采集速率	20 Hz	80 Hz
数据采集波长	205，214，220，232，266，268，280 nm	205，214，220，232，266，268，280 nm
流通池	60 mm 光程	10 mm 光程
进样量	5 µL (进样针清洗，冲洗口活化 5 秒)	1 µL (进样针清洗，冲洗口活化 3 秒)
恒温进样器	5 °C	5 °C
流动相 A	25 mM HK_2PO_4，pH 7.0	25 mM HK_2PO_4，pH 7.0
流动相 B	乙腈	乙腈
梯度	0 min 时 → 1%B 5 min 时 → 1%B 15 min 时 → 30%B 20 min 时 → 30%B 20.1 min 时→ 1%B	0 min 时 → 1%B 0.56 min 时 → 1%B 1.66 min 时 → 30%B 2.2 min 时 → 30%B 2.22 min 时 → 1%B
后运行时间	5 minutes	1 minute
流速	0.45 mL/min	1.0 mL/min

表 1
Agilent 1260 Infinity 液相色谱系统和 1290 Infinity 液相色谱系统所用的色谱参数

贮备方法

维生素对光和热很敏感。为了增加溶液稳定性，将所有溶液贮存于冰箱。恒温自动进样器分析时保持 4 °C。

步骤

进样 5 µL 流动相 A 作为空白，之后对每个线性浓度进行分析，每个浓度重复进样六次。计算每个浓度的峰面积和保留时间 (RT) 的标准偏差 (SD) 和相对标准偏差 (RSD)。用较低的线性浓度确定 LOD 和 LOQ。用每个线性浓度的平均面积对浓度作图得到线性曲线。

改变方法的六个关键参数评估方法的耐用性。对 5 ppm 添加混标六次重复进样，记录数据用于耐用性测定。

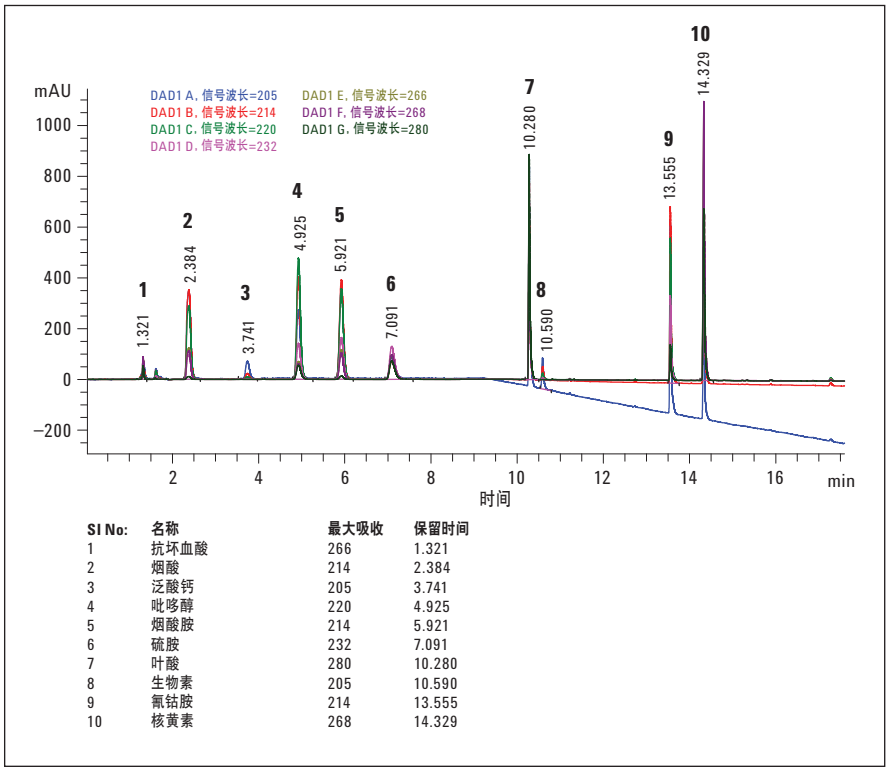
三个复合维生素片样品分别在添加和不添加 5 ppm 混标的条件下三次重复进样。峰面积和保留时间用来回收率和营养标注计算。

使用安捷伦方法转换软件可将该方法有效转移到超高液相色谱仪上。评估了每种维生素的 LOD，LOQ 以及线性，用峰面积和保留时间 RSD 建立了方法的准确度。

结果和讨论

分离和检测

用不同流动相在不同梯度和等梯度条件下分析添加混标。发现用 25 mM K2HPO4 pH 7 梯度分离得到最好的分离度。图 1 表示使用 Agilent Poroshell 120 EC-C18，150 mm × 3.0 mm，2.7 µm 色谱柱在 20 分钟内就分离 10 种水溶性维生素，分离度优异。由于这些维生素的结构不同，因而每种维生素的谱图和最大吸收也不同。抗坏血酸在 266 nm 有强吸收，而叶酸的最大吸收在 280 nm。生物素和泛酸钙的 UV 吸收很差，因此选择 205 nm 波长用于分析。烟酸，烟酸胺和氰钴胺的最大吸收波长在 214 nm。而吡哆醇最大吸收大约在 220 nm。硫胺分析选择 232 nm，核黄素的分析选择 268 nm。图 1 是 7 个不同波长下的色谱叠加图。可以很清楚的看到在不同采集波长下每种维生素峰高的变化。梯度运行时基线吸收会发生变化，这是因为流动相中的缓冲液的量发生了变化。较低波长条件下这个现象更加明显，这就解释了 205 nm 波长下的基线漂移。ChemStation 软件的高级特性使其能够查看每个峰的纯度以及评估方法的特异性。本文中采用准确性、线性范围、精确性、特异性、回收率以及耐用性研究来评估这一方法。



SI No:	名称	最大吸收	保留时间
1	抗坏血酸	266	1.321
2	烟酸	214	2.384
3	泛酸钙	205	3.741
4	吡哆醇	220	4.925
5	烟酸胺	214	5.921
6	硫胺	232	7.091
7	叶酸	280	10.280
8	生物素	205	10.590
9	氰钴胺	214	13.555
10	核黄素	268	14.329

图 1
采用 15 cm Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱分离 10 种水溶性维生素。七种不同波长下的色谱叠加图

检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ)

将信噪比 (S/N) > 3 时的分析物浓度作为检测限 LOD，将 S/N > 10 时的分析物浓度作为定量限 LOQ。每种维生素的 LOQ，LOQ 和 S/N 结果都列于表 1 中。例如，图 2 显示了叶酸的 LOQ 水平与两个空白（之前和之后）的色谱叠加图。

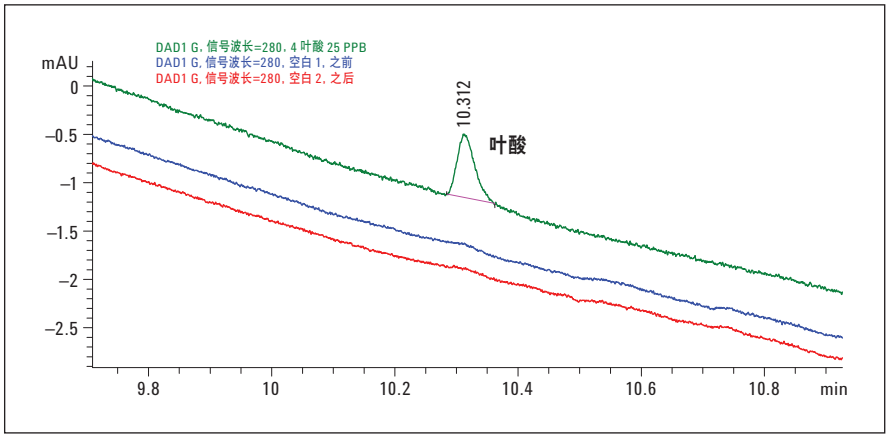


图 2
0.025 ppm (25ppb) 叶酸（LOQ 水平）与两个空白（之前和之后）的色谱叠加图

线性

每种维生素都建立了从 LOQ 到最大浓度的线性曲线，结果列于表 2。每个线性浓度重复进样六次，采用峰面积平均值绘制线性曲线。这一线性范围覆盖了大多数复合维生素片中维生素的含量。图 3 所示为生物素的线性曲线。除了抗坏血酸之外，所有维生素的回归系数都很高。在溶液中，由于溶解氧的含量不同抗坏血酸与它的脱氢氧化态之间存在一个可逆平衡 1,2,3。降低流动相的 pH 到酸性范围可使这一反应最小化。叶酸会在较低 pH 下沉淀，因此不能保持酸性 pH。抗坏血酸的峰面积响应重现性不一致，因此抗坏血酸 R2 值较低。表 2 包括 LOD，LOQ 和线性结果。

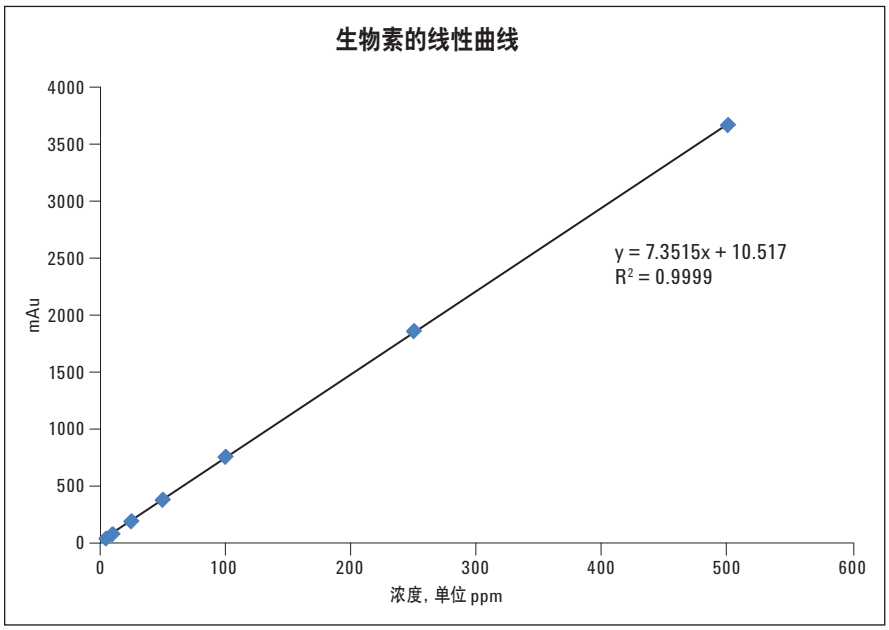


图 3
生物素的线性曲线，浓度范围从 5 ng/mL 到 500 ng/mL，线性系数很高

		LOD		LOQ		线性范围		浓度
SI no:	名称:	ng/µL (ppm)	S/N	ng/µL (ppm)	S/N	(ppm) 浓度范围	R^2 值	n = 6
1	抗坏血酸	1	4.8	2.5	9.7	2.5–500	0.9827	8
2	烟酸	0.025	3.1	0.05	10.9	0.05–250	1	12
3	泛酸钙	1	5.0	2.5	12.6	2.5–500	0.9998	8
4	吡哆醇	0.025	4.4	0.05	9.9	0.05–250	0.9994	12
5	烟酸胺	0.025	4.8	0.05	9.8	0.05–250	1	12
6	硫胺	0.025	3.1	0.1	9.9	0.1–250	1	11
7	烟酸	0.01	4.7	0.025	10.3	0.025–250	0.9985	13
8	生物素	2.5	4.2	5	9.7	5–500	0.9999	7
9	氰钴胺	0.01	6.4	0.025	15.2	0.025–250	0.9994	13
10	核黄素	0.005	8.1	0.01	12.4	0.01–250	0.9985	14

表 2
全部 10 种维生素的 LOD，LOQ，S/N 和线性结果

保留时间和峰面积的准确性

全部 10 种维生素在不同线性浓度下保留时间的 RSD 均小于 0.65%。除了抗坏血酸之外，所有维生素不同线性浓度下的峰面积 RSD 都很小。由于抗坏血酸峰面积不稳定，其峰面积在一段时间内不能测量一致。最小的峰面积和保留时间 RSD 值保证了该方法的重现性以及系统的准确性是可以接受的。图 4 和图 5 分别代表了一些维生素的峰面积和保留时间 RSD。

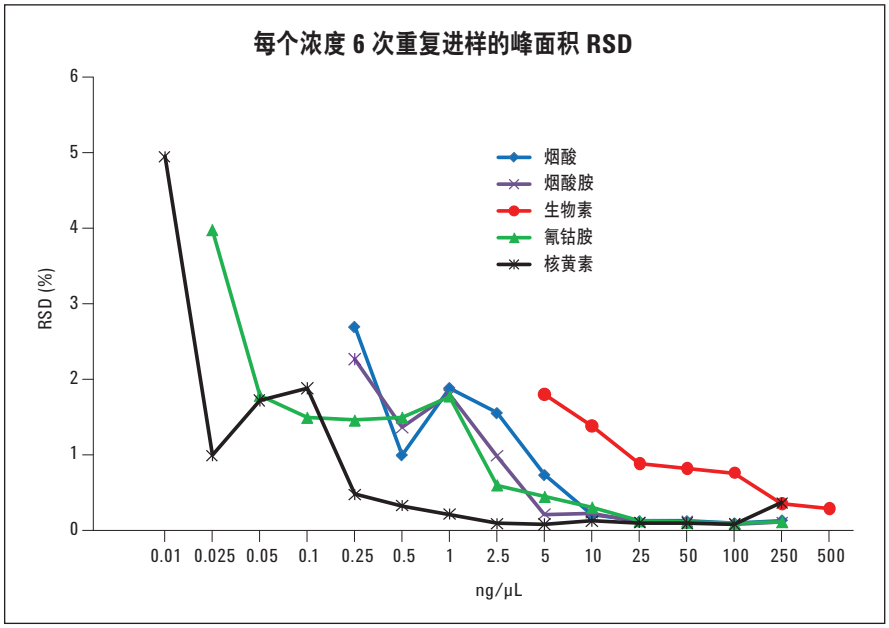


图 4
不同维生素不同浓度下峰面积的准确度，每个浓度重复进样六次

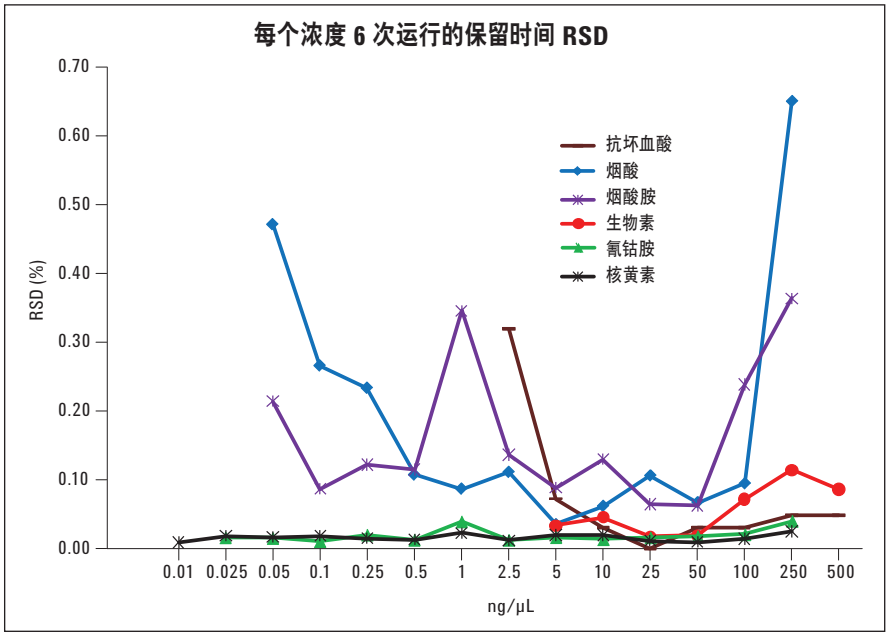


图 5
不同维生素保留时间的准确度，每个浓度重复进样六次

Sl no:	参数	原始方法值	测量偏差	改进值	观测到的保留时间偏差（允许范围 = ± 2%）	观测到的峰面积偏差（允许范围= ± 5%）
1	柱温	35 °C	± 5%	33 °C	通过	通过
				37 °C	三种中度洗脱化合物未通过	通过
2	色谱柱流速	0.45 mL/min	± 2%	0.44 mL/min	最后洗脱的五种化合物通过	通过
				0.46 mL/min	最后洗脱的五种化合物通过	通过
3	进样量	5 µL	± 5%	4.75 µL	通过	通过
				5.25 µL	通过	通过
4	梯度斜度	2.9（在 10 分钟的时间内从 1 到 30）	10%	3.2（在 9 分钟的时间内从 1 到 30）	最先洗脱的八种化合物通过	通过
				2.6（在 11 分钟的时间内从 1 到 30）	最先洗脱的八种化合物通过	通过
5	检测波长	205，214，220，232，266，268，280 nm	± 3 nm	202，211，217，229，263，265，277 nm	通过	七种化合物通过
				208，217，223，235，269，271，283 nm	通过	五种化合物通过
6	流动相 pH	7.0	± 0.2	6.8	未通过	未通过
				7.2	未通过	未通过

表 3
耐用性测试结果总结

耐用性

使用 10 ng/mL 的维生素添加混标测试方法耐用性。进样量设为 5 µL，该混标的柱上浓度是 50 ng/mL (ppm)。改变六个关键参数，10 次重复进样采集数据。取最后六次的重复数据用于分析。保留时间和峰面积允许的偏差分别设定为 ± 2.0% 和 ± 5%。

耐用性测试的结果总结于表 3。结果清楚表示准确选择最大吸收波长对维生素测定非常重要。一些维生素的峰面积对检测波长的改变非常敏感，仅仅增加或减少 3 nm，响应变化就非常明显。考察了柱温对保留时间的影响，发现当柱温比实际方法低 2 °C (33 °C) 时，偏差在允许范围内。当柱温比实际方法高 2 °C (37 °C)，三个中度洗脱峰的保留时间时偏差就会超出允许范围。色谱柱流量的改变对耐用性影响的测试表明，最早洗脱的五种高极性维生素的保留时间对色谱柱流速很敏感。图 6 是维生素混标实际流速和不同色谱柱流速的色谱图。改变洗脱梯度斜率的研究表明最后洗脱的两个峰的保留时间对洗脱梯度斜率敏感。*改变流动相 pH 值的研究表明流动相 pH 值对峰面积和保留时间的重现性很关键，必须小心控制。*当 pH 值比实际值增加 0.2 的时，洗脱形式明显不同。pH 值改变引起的洗脱形式的变化见图 7 所示。耐用性结果表明该方法对于常规使用是可靠的，在很大程度上，性能仍不受参数改变的影响。然而，一些参数很关键，必须小心控制。

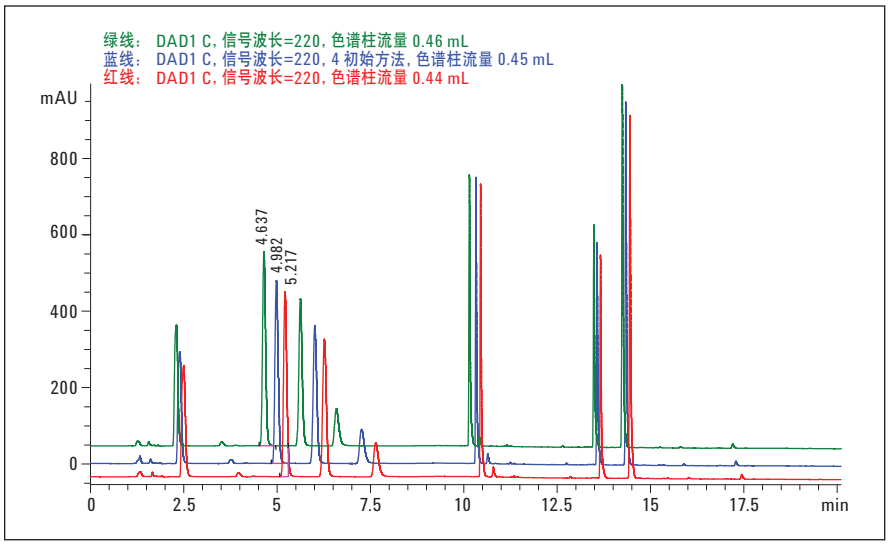


图 6
耐用性研究结果。不同色谱柱流速的影响

样品基质加标回收率

由于无法得到空白基质，复合维生素片中水溶性维生素的回收率分析采用标准添加法。使用添加混标，其中每种维生素浓度为 5 ng/µL (ppm)。在回收率实验中，将复合维生素片溶于 200 mL 水，之后进行分析。后向该样品中添加混标。测量加入标样混合物后峰面积响应的改变，每种维生素的相对含量用线性方程进行倒推计算 4，5。改变值除以已知的初始加入量 (5 ng/µL) 用百分比表示就是回收率。回收率分析也用十倍稀释样品基质进行了实验。结果列于表 4。在进行回收率计算时可以发现抗坏血酸的降解和缺失。良好的回收率结果证明提取步骤的可靠性，且该方法可以用于营养标注分析中水溶性维生素的监测和定量分析。

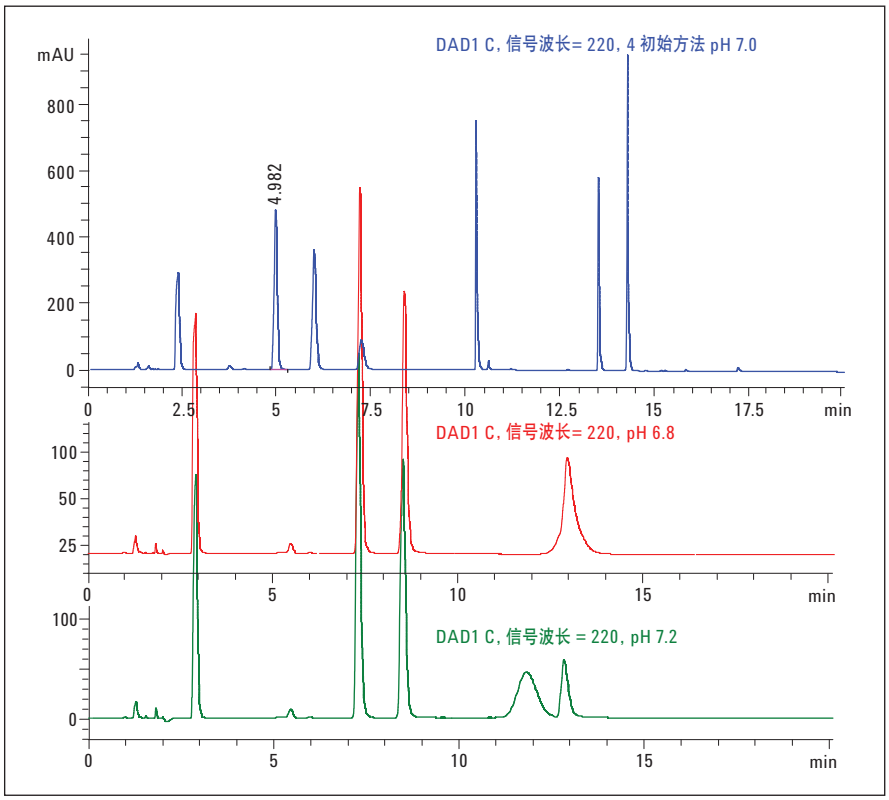


图 7
耐用性测试结果。改变 pH 的影响

			回收率 (%)					
维生素	R^2	线性方程	样品 1	样品 1 稀释	样品 2	样品 2 稀释	样品 3	样品 3 稀释
烟酸	1	y = 44.956x + 9.8116	95.4	96.3	94.2	99.1	97.5	95.1
泛酸钙	0.9998	y = 8.1153x + 13.278	84.2	93.4	92.0	92.0	86.4	80.2
吡哆醇	0.9994	y = 64.275x – 102.77	125.3	96.3	123.6	98.1	125.7	94.5
烟酸胺	1	y = 51.034x + 6.7257	96.9	100.0	99.6	98.3	100.1	87.0
硫胺	1	y = 23.202x - 8.8965	100.7	99.7	100.6	102.3	99.2	98.0
叶酸	0.9985	y = 38.06x + 42.787	80.8	82.2	81.6	85.1	82.3	81.8
生物素	0.9999	y = 7.3515x + 10.517	82.2	94.8	80.4	96.3	84.0	95.6
氰钴胺	0.9994	y = 31.164x + 31.428	84.9	83.8	85.6	87.3	80.5	83.0
核黄素	0.9985	y = 50.904x + 71.323	82.7	82.2	81.6	85.4	84.1	80.6

表 4
回收率分析结果

营养标注

在本研究中，用色谱方法计算复合维生素片中的维生素含量，并与标签上的浓度进行了对比。在复合维生素片溶于 200 mL 水后进行了三次重复分析。因为维生素具有很宽的浓度范围，所以也进行了稀释样品分析。抗坏血酸含量很高，产生的色谱峰使检测器饱和。对于抗坏血酸，稀释样品的分析更准确，因为较低的峰高和峰面积在检测器的线性范围内。但在稀释样品中，检测不到一些微克级的维生素的峰。在样品的色谱分析中，没有检测到任何维生素峰的干扰。在样品和稀释样品分析中，使用各维生素峰的相应峰面积用于复合维生素片的营养标注分析。使用从线性曲线得到的线性方程进行计算。提取步骤非常简单，可用于常规分析。正如标签所示，样品中没有烟酸（B3 的酸形式），因此在样品色谱图中也未见烟酸的峰。这些结果表明该方法适用于复合维生素片中维生素的定量分析。

		复合维生素片 1		复合维生素片 2		复合维生素片 3	
维生素	标注含量	未稀释	稀释	未稀释	稀释	未稀释	稀释
抗坏血酸 (C)	80 mg	饱和峰	201.7	饱和峰	203.7	饱和峰	198.7
泛酸钙 (B5)	6 mg	6.7	6.1	6.6	6.5	6.6	6.3
吡哆醇 (B6)	1.4 mg	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
烟酸胺 (B3)	16 mg	15.7	16.0	15.4	16.0	15.2	15.6
硫胺 (B1)	1.1 mg	1.3	1.3	1.3	1.3	1.2	1.2
叶酸 (B9)	200 µg	114.9	117.6	114.3	120.6	115.3	121.0
生物素 (B7)	50 µg	42.4		35.7		38.5	
氰钴胺 (B12)	2.5 µg	0.5		0.4		0.4	
核黄素 (B2)	1.4 mg	1.4		1.4		1.3	

表 5
维生素的计算含量以及三个未稀释和稀释样品中每种维生素的标签标注含量

超高液相色谱方法

使用安捷伦方法转换软件建立了配备二级管阵列检测器的超高液相色谱的方法来分离水溶性维生素。该软件能很容易将二元或四元泵系统的方法转换为适合 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统的优化方法。转换的超高液相色谱方法分析速度很快，相对于 20 分钟的较长梯度，它能节省 90% 的分析时间和 70% 的溶剂。表现出良好的分离度和优异的峰形（图 8）。这种方法也可以用于维生素片的快速营养标注分析。建立了 LOD 和 LOQ，同样使用超高液相色谱方法对每种维生素的线性进行了评估。峰面积和保留时间的 RSD 较低，证明了方法的准确度。表 6 列出了实验的 LOD，LOQ。图 9 的例子表现出良好的线性，图 10 表示的是保留时间和峰面积的 RSD 值，柱上浓度 50 ppm，进样量 1 µL。结果证明了超高液相色谱方法快速、灵敏、可靠。

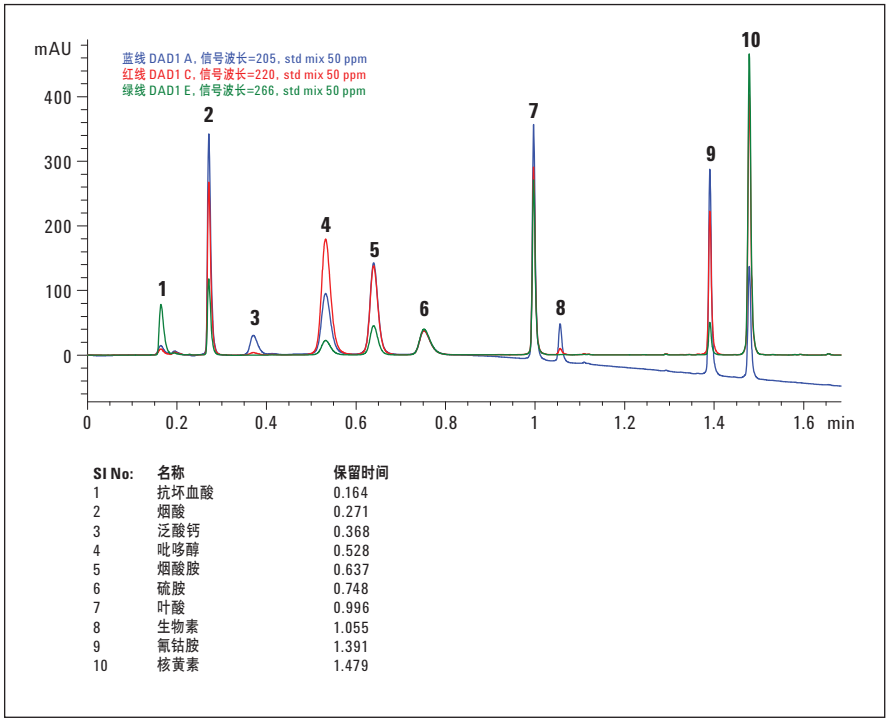


图 8
使用 75 mm 的 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱和超高液相色谱方法分离 10 种水溶性维生素。不同检测波长采集的色谱叠加图

		LOD		LOQ	
SI No:	名称:	浓度(ppm)	S/N	浓度(ppm)	S/N
1	烟酸	0.02	4.3	0.05	12.8
2	泛酸钙	0.5	4.2	1.0	11.3
3	吡哆醇	0.05	5.3	0.1	9.6
4	烟酸胺	0.05	4.3	0.1	11.1
5	硫胺	0.1	3.1	0.5	11.3
6	叶酸	0.02	3.1	0.1	16.3
7	生物素	0.5	5.3	1	16.5
8	氰钴胺	0.002	3.9	0.005	10.2
9	核黄素	0.02	3.5	0.05	9.6

表 6
超高液相色谱方法的 LOD 和 LOQ 值

结论

采用 Agilent Poroshell 120 EC-C18 色谱柱分离和定量分析了多维片中的水溶性维生素。使用 Agilent 1260 Infinity 液相色谱系统建立了一种耐用的反相液相色谱方法，只需 20 分钟即可完成分析。用安捷伦方法转换软件将其有效地转换为只需 2 分钟的超高液相色谱方法。使用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱系统进行了超高液相色谱分析。尽管每次进样的浓度范围不同，还是可以将该方法成功的用于维生素 C、B1、B2、B3、B5、B6、B7、B9 和 B12 的定量分析。梯度洗脱能够确保更好的色谱分离度，提高灵敏度并减少基质干扰。该方法简单、特异、灵敏、快速，并能提供良好的准确度、线性和回收率。它可以简单有效的用于复合维生素片中上述水溶性维生素的常规分析。

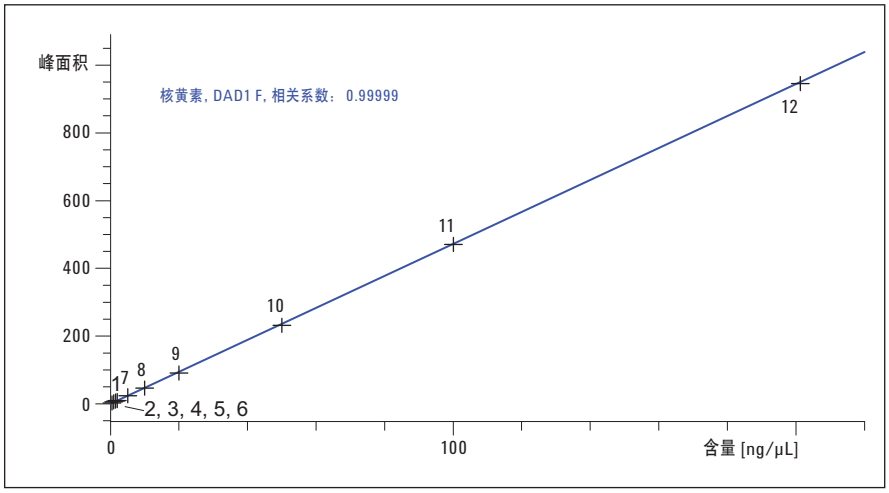


图 9
核黄素线性曲线，浓度范围从 0.05 ppm 到 200 ppm，相关系数 0.99999（12 个浓度，六次重复进样）。进样量 1 µL

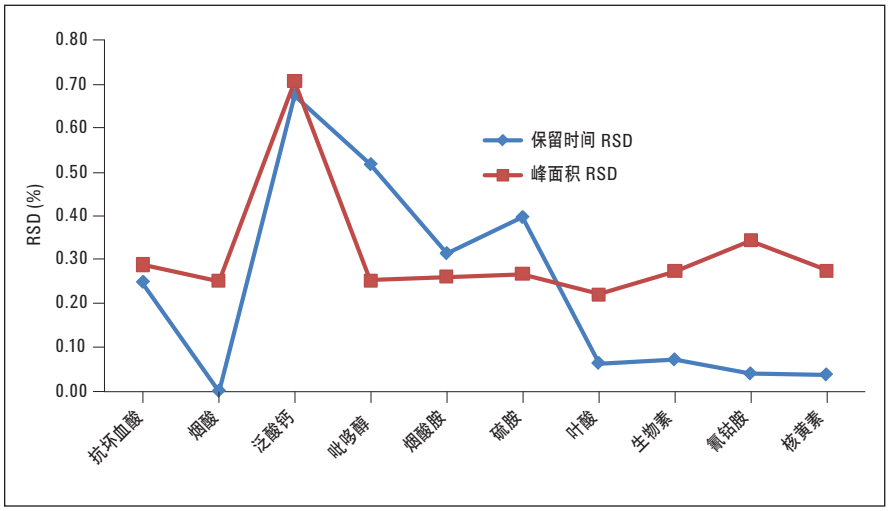


图 10
全部 10 种维生素（柱上浓度 50 ppm）超高液相色谱分析的峰面积和保留时间 RSD。进样量 1 µL，六次重复进样

参考文献

1.
Katherine E. Sharpless, Sam Margolis, Jeanice Brown Thomas, "Determination of vitamins in food-matrix Standard Reference Materials," National Institute of Standards and Technology, 100 Bureau Drive, Stop 8392, Gaithersburg, MD 20899-8392, USA

2.
A. Jedlicka and J. Klimes, "Determination of Water- and Fat-Soluble Vitamins in Different Matrices Using High-Performance Liquid Chromatography," Chem. Pap., 2005, 59, 202–222.

3.
Sam A. Margolis, David L Duewer, "Measurement of Ascorbic Acid in Human Plasma and Serum: Stability, Intralaboratory Repeatability, and Interlaboratory Reproducibility," Clinical Chemistry, 1996, 42, 1257–1262.

4.
AOAC Official Method 2004.07 Vitamin B6 in Reconstituted Infant Formula Liquid Chromatographic Method First Action 2004.

5.
Duncan Thorburn Burns, Klaus Danzer, and Alan Townshend, "Use of the terms 'recovery' and 'apparent recovery' in analytical procedures," Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 11, pp. 2201–2205, 2002.

www.agilent.com/chem/lc

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2011
2011 年 6 月 1 日
出版号 5990-7950CHCN

Agilent Technologies