



Isolasi dan Pemurnian Protein dari Lembaga Jagung (*Corn Germ*) Menggunakan Metode Presipitasi dan Dialisis

[Protein Isolation and Purification from Corn Germ Using Precipitation and Dialysis Methods]

Nancy Siti Djenar[✉], Joko Suryadi

Program Studi D-III Analis Kimia, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Bandung
Jl. Gegerkalong Hilir, Ciwaruga, Kec. Parongpong, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat

Abstract. The protein contained in corn germ can be used as a raw material that has the potential to provide many benefits in the food, pharmaceutical, and plastic industries. Corn germ with the highest content of protein is around 12-18.4%. In this study, protein from corn germ was isolated and homogenized using tris buffer HCl at pH 7.2. To obtain the protein fraction, precipitation was carried out (salting-out) using a solution of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ with saturation levels of 25%, 50%, and 70% respectively. The purification process was carried out by dialysis for 24 hours. The dialysis produced pure protein with a concentration of 4.161%. Based on the identification of functional groups using an FT-IR spectrophotometer, it was shown that the isolated and purified corn germ protein contained four absorption bands, including amide A (3211.48 cm^{-1} and 3226.91 cm^{-1}), amide I (1633 cm^{-1} and 1629.85 cm^{-1}), amide II (1527 cm^{-1} and 1552.70 cm^{-1}) and amide III (1296.16 cm^{-1}). The four absorption bands correspond to the wavenumbers of corn protein stated in the literature and are estimated to contain albumin, globulin, glutelin, and zein.

Keywords: corn germ protein, isolation, purification, dialysis

Abstrak. Protein yang terdapat dalam lembaga jagung dapat dijadikan sebagai bahan baku yang berpotensi memberikan banyak manfaat pada industri pangan, farmasi, dan plastik. Bagian lembaga jagung mengandung protein dengan kandungan tertinggi sekitar 12-18,4%. Pada penelitian ini, protein dari lembaga jagung diisolasi dan dihomogenasi menggunakan pelarut buffer tris HCl pH 7,2. Untuk mendapatkan fraksi proteininya dilakukan presipitasi menggunakan larutan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan tingkat kejenuhan 25%, 50% dan 70%. Proses pemurnian dilakukan dengan cara dialisis selama 24 jam. Dari hasil dialisis diperoleh protein murni dengan konsentrasi 4,161%. Berdasarkan identifikasi gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FT-IR, menunjukkan bahwa protein lembaga jagung yang telah diisolasi dan dimurnikan mengandung empat pita serapan yaitu amida A ($3211,48 \text{ cm}^{-1}$ dan $3226,91 \text{ cm}^{-1}$), amida I pada bilangan gelombang (1633 cm^{-1} dan $1629,85 \text{ cm}^{-1}$), amida II (1527 cm^{-1} dan $1552,70 \text{ cm}^{-1}$) serta amida III ($1296,16 \text{ cm}^{-1}$). Keempat pita serapan tersebut memiliki kesesuaian dengan bilangan gelombang protein jagung pada literatur dan diperkirakan mengandung albumin, globulin, glutelin dan zein.

Kata kunci: protein lembaga jagung, isolasi, pemurnian, dialisis

Diterima: 18 Januari 2022, Disetujui: 11 April 2022

Situs: Djenar, N.S., dan Suryadi, J. (2022). Isolasi dan Pemurnian Protein dari Lembaga Jagung (*Corn Germ*) Menggunakan Metode Presipitasi dan Dialisis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 8(1): 60-66.

LATAR BELAKANG

Biji (kernel) jagung terdiri atas empat bagian utama yaitu pericarp, lembaga, endosperm dan tip kap. Lembaga merupakan

bagian yang cukup besar, meliputi 11,5% dari bobot keseluruhan biji. Kandungan protein pada jagung terkonsentrasi pada bagian lembaga yaitu 18,4%, yang terdiri atas albumin, globulin dan nitrogen non protein (Suarni & Widowati, 2007). Jika dibandingkan dengan

[✉] Corresponding author
E-mail: nancysd@polban.ac.id

bagian lain dari biji jagung, lembaga jagung merupakan yang terbaik berdasarkan komposisi nutrisinya (Naves *et al.*, 2011). Dalam setiap 100 g kernel jagung, lembaga mengandung 8 g air, 12,02 g protein, 17,74 g total lipid, 27,75 g total serat makanan, 3,54 g abu dan 30 g karbohidrat serta sejumlah mineral seperti kalsium, besi dan seng. Berdasarkan komposisinya diatas lembaga jagung direkomendasikan sebagai bahan nutrisi dalam formulasi produk makanan untuk konsumsi manusia. Di industri, bagian lembaga dan pericarp jagung digunakan untuk menghasilkan minyak (*corn germ oil*) dan pakan ternak karena kandungan nutrisinya yang tinggi terutama lipid, protein dan serat (Naves *et al.*, 2011).

Selain sebagai bahan dasar formulasi kosmetik, albumin dan globulin yang terdapat pada lembaga jagung dapat dijadikan larutan standar untuk analisis protein dalam bentuk *Bovine Serum Albumin* (BSA) dan *Bovine Gamma Globulin* (BGG). Penelitian dan pemanfaatan protein dari lembaga jagung belum dilakukan sepenuhnya di Indonesia.

Untuk memisahkan protein dari makromolekul lain dalam lembaga jagung dapat dilakukan melalui isolasi dengan cara mengendapkannya (*salting out*) menggunakan ammonium sulfat secara bertahap. Isolasi ini dilakukan berdasarkan sifat fungsional protein diantaranya posisi gugus polar, pH dan kelarutan dengan adanya garam yang berkonsentrasi tinggi (Duong-Ly & Gabelli, 2014; Fatchiyah dkk., 2011). Untuk menghilangkan ammonium sulfat, dialisis adalah yang metode terbaik. Menggunakan kolom tidak disarankan karena dapat menyebabkan media kolom terkompresi (Duong-Ly & Gabelli, 2014).

Karakterisasi produk yang dapat dilakukan, diantaranya menggunakan metode spektrofotometri UV-VIS, *Fourier-transform infrared* (Duong-Ly & Gabelli, 2014; Fatchiyah dkk., 2011; Hao *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Lembaga jagung yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari bagian kernel jagung yang dikeringkan, dihaluskan menggunakan blender dan dijadikan serbuk. Semua bahan kimia yang digunakan seluruhnya dalam *pro analys grade* (Merck), diantaranya larutan buffer 0,1 M Tris HCl pH 7,2 p.a, garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh dan *Bovine Serum Albumin* (BSA), dan pereaksi Biuret yang terdiri dari Cusulfat pentahidrat, Na-K-tartrat, NaOH, dan KI.

Peralatan yang digunakan adalah Microcentrifuge (Eppendorf), Spektrofotometer UV-Visible (Evolution™ 201/220) dan Spektrofotometer FTIR (Bruker FTIR Alpha Spectrometer).

Prosedur Penelitian

Homogenisasi

Sebanyak 2,4 g serbuk lembaga jagung ditambahkan dengan 24 mL larutan buffer 0,1 M tris HCl pH 7,2 pada suhu 4°C. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 200 rps selama 20 menit pada suhu 25°C. Pada supernatan diukur kadar proteinnya menggunakan spektrofotometer UV/VIS pada panjang gelombang maksimum 540 nm. Larutan standar protein yang digunakan adalah *Bovine Serum Albumin* (BSA) pada kisaran 2,5 - 5 mg/mL (Jubaiddah *et al.*, 2017).

Presipitasi menggunakan larutan garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ jenuh

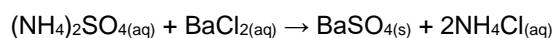
Salting-out dilakukan dengan menambahkan garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan

tingkat kejenuhan 25%, 50%, dan 70% ke dalam 20 mL supernatan hasil homogenisasi. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi bertahap dengan kecepatan 200 rps selama 20 menit pada suhu 25°C. Presipitat (hasil *salting out*) yang diperoleh dari setiap tahap disebutkan sebagai pelet fraksi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 25% dan seterusnya (Duong-Ly & Gabelli, 2014; Fatchiyah dkk., 2011).

Dialisis

Pada tahapan ini pelet dari setiap fraksi masin-masing dimasukkan ke dalam membran selofan. Selanjutnya membran tersebut direndam di dalam buffer 0,1 M tris HCl pH 7,2 pada suhu 4°C dan diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 24 jam. Setiap delapan jam larutan buffer diganti dengan yang baru dan diuji kandungan garamnya menggunakan larutan BaCl_2 . Dialisis dihentikan bila telah bebas dari garam sulfat.

Mekanisme reaksi diatas ditunjukkan dalam reaksi berikut ini (Mayasari, 2016):



Untuk memisahkan antara protein dengan larutan buffer tris HCl pH 7,2 dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit (Nasution et al., 2018).

Karakterisasi

Endapan hasil sentrifugasi berupa protein murni ditentukan kadar proteininya menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 540 nm dan serbuk protein diidentifikasi gugus fungsinya menggunakan FTIR.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kasar Protein

Tahapan ini bertujuan mendapatkan isolat protein dari lembaga jagung. Larutan buffer tris

HCl pH 7,2 berfungsi untuk menjaga struktur protein selama proses ekstraksi sehingga molekul proteininya tidak mengalami perubahan (Fatchiyah dkk., 2011). Supernatan dari hasil sentrifugasi diukur kadar proteinnya pada panjang gelombang maksimum 540 nm dan diperoleh sebesar 3,690%. Berdasarkan literatur, kadar protein secara keseluruhan pada lembaga jagung sebesar 18,4% (Suarni & Widowati, 2007). Perbedaan kadar protein yang cukup signifikan disebabkan karena protein yang terukur belum murni, melainkan masih mengandung zat lain seperti lemak, mineral dan karbohidrat (Suarni & Widowati, 2007).

Hasil Presipitasi Protein Menggunakan Larutan Garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Presipitasi protein bertujuan untuk memisahkan protein dari senyawa senyawa lain berdasarkan tingkat kelarutan dan jumlah gugus hidrofobik pada asam-asam amino penyusun proteininya. Pada presipitasi ini akan terjadi dua peristiwa, yaitu *salting in* dan *salting out* yang dapat ditunjukkan pada data yang tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil presipitasi protein menggunakan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Konsentrasi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (%)	Presipitat Protein (g)	Keterangan
25	0	<i>Salting in</i>
50	0,3334	<i>Salting out</i>
70	0,0722	<i>Salting out</i>

Setiap penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan kadar yang berbeda menghasilkan presipitat protein dengan jumlah yang berbeda pula (Tabel 1). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan kelarutan protein di dalam air. Pada Penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 25% protein mengalami *salting in* karena garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

kalah bersaing dengan protein sehingga bagian hidrofilik pada protein masih dapat berinteraksi dengan molekul air yang menyebabkan protein larut.

Pada penambahan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 50% dan 70% protein mengalami *salting out*. Peningkatan konsentrasi garam akan meningkatkan kekuatan ioniknya. Hal ini menyebabkan interaksi antara garam dengan air semakin kuat, sedangkan kelarutan protein dalam air semakin menurun. Pada akhirnya, molekul protein akan terpisah dari pelarutnya dan berasosiasi membentuk endapan (*salting out*).

Hasil Pemurnian Protein Secara Dialisis

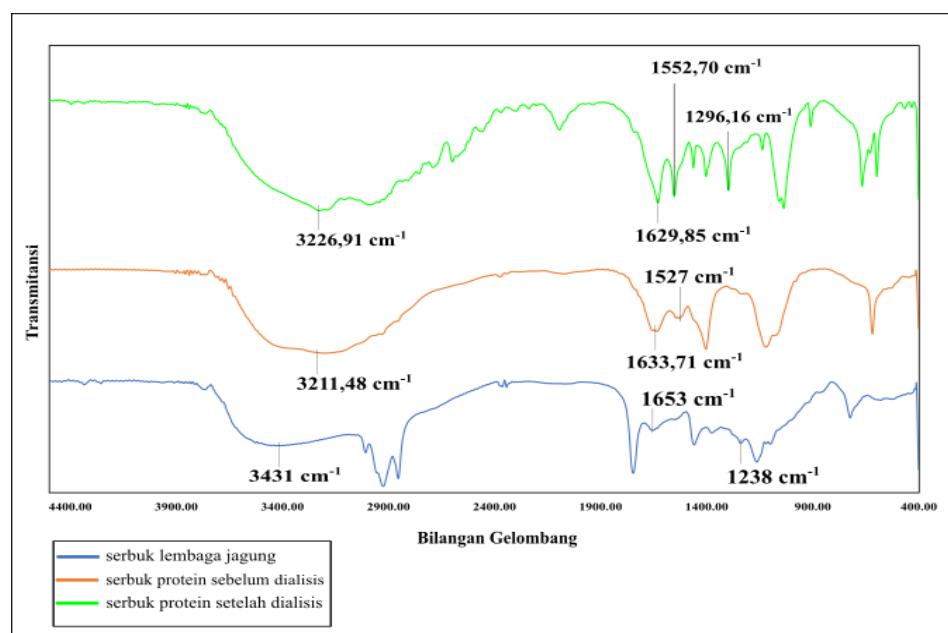
Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan sisa-sisa garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ yang diperkirakan masih terkandung dalam presipitat protein. Protein yang mempunyai ukuran molekul lebih besar akan tertahan

dalam membran selofan, sedangkan garam $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ yang ukuran molekulnya lebih kecil akan keluar melalui pori membran. Berdasarkan hasil pengujian kualitatif menggunakan larutan BaCl_2 , tidak terbentuk endapan BaSO_4 . Hal ini menunjukkan bahwa proses dialisis berlangsung baik.

Selanjutnya protein murni yang diperoleh dari hasil dialisis ditentukan kadarnya. Bila dibandingkan hasil pengukuran sebelum dialisis, terjadi peningkatan menjadi 4,161 %. Perolehan ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa pada setiap 100 g jagung mengandung 4,1 % protein (Nuraini, 2019).

Gugus Fungsi Protein dari Lembaga Jagung

Jenis protein yang digunakan untuk analisis FTIR terdiri dari serbuk lembaga jagung, serbuk protein sebelum dialisis dan serbuk protein setelah dialisis. Spektrum FTIR dari ketiga protein ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum FTIR untuk serbuk lembaga jagung, serbuk protein sebelum dialisis dan serbuk protein setelah dialisis.

Pada Gambar 1 ditunjukkan bahwa protein dari lembaga jagung mempunyai pita

pita serapan yang pada bilangan gelombang tertentu seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Jenis-jenis gugus fungsi dari protein lembaga jagung berdasarkan spektrum FTIR

Keterangan	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			
	Amida A (N-H Stretching, O-H Stretching)	Amida I (C=O Stretching)	Amida II (C-N Stretching, N-H Bending)	Amida III (C-N Stretching, C=O Bending)
Serbuk lembaga jagung	3431	1653 (α helic)	-	1238
Serbuk protein sebelum dialisis	3211,48	1633,71 (β sheet)	1527	-
Serbuk protein setelah dialisis	3226,91	1629,85 (β turn)	1552,70	1296,16

Tabel 3. Pembandingan pita-pita serapan protein antara hasil penelitian dengan literatur

Jenis Protein dan Peneliti	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			
	Amida A (N-H Stretching, O-H Stretching)	Amida I (C=O Stretching)	Amida II (C-N Stretching, N-H Bending)	Amida III (C-N Stretching, C=O Bending)
<u>Albumin:</u>				
1. (Ahmad et al., 2016)	-	1653,3 (α helix)	-	1305,6 (α helic)
2. (Oudemans et al., 2007)	-	1650	1550	1450
<u>Globulin:</u>				
1. Harrick Scientific Products, Inc. (<i>Using the ConcentratIR2 to Analyze the Bovine Gamma Globulin</i> , 2016)	-	1660, 1670-1650 (α helix) 1620 -1640 (β sheet)	-	-
2. (Meng & Ma, 2002)	-	1651 (α helix) 1660, 1668 (β turns) 1637, 1682 (β sheet)	-	-
<u>Glutelin:</u>				
1. (Montiel et al., 2018)	-	1650	1540	-
2. (Li et al., 2014)	-	1650 (α helix) 1628 (β sheet)	-	-
<u>Zein:</u>				
1. (Shaikh et al., 2014)	3292	1643 (α helix)	1531	1240
2. (Miao et al., 2017)	3500-2960	1660 1633 1694	1549	1239
Serbuk Lembaga Jagung	3431	1653 (α helic)	-	1238
Serbuk Protein Sebelum Dialisis	3211,48	1633,71 (β sheet)	1527	-
Serbuk Protein Setelah Dialisis	3226,91	1629,85 (β sheet)	1552,70	1296,16

Protein jagung mempunyai empat pita serapan yang disebut sebagai amida A ($3226,91\text{-}3431\text{ cm}^{-1}$), amida I ($1629,85\text{-}1653\text{ cm}^{-1}$), amida II ($1527\text{-}1552\text{cm}^{-1}$), dan amida III ($1238\text{-}1296,16\text{ cm}^{-1}$) (Tabel 2). Keempat pita serapan ini telah sesuai dengan dengan hasil penelitian (Kong & Yu, 2007), (Shaikh *et al.*, 2014) dan (Miao *et al.*, 2017).

Pada spektrum FTIR, posisi amida I sensitif terhadap struktur sekunder protein dan memiliki tiga komponen yang terdapat pada struktur sekunder protein, yaitu α -helix, β -sheet, dan β -turns dimana ketiga pita serapan tersebut selain sangat sensitif dalam spektrum FTIR juga dalam memperkirakan jenis protein yang terdapat pada suatu sampel.

Pita-pita serapan dari jenis protein yang terdapat pada hasil penelitian ditunjukkan pada Tabel 3. Protein hasil isolasi dari lembaga jagung diperkirakan mengandung empat jenis protein yaitu albumin, globulin, glutelin, dan zein karena bilangan gelombangnya sesuai dengan beberapa literatur (Tabel 3). Untuk memberikan justifikasi keberadaan keempat protein diatas, perlu dilakukan pemisahan berdasarkan berat molekulnya menggunakan SDS-PAGE (Duong-Ly & Gabelli, 2014; Fatchiyah dkk., 2011).

KESIMPULAN

Kadar protein lembaga jagung mengalami peningkatan yang semula sebesar 3,690%, setelah dilakukan pemurnian melalui presipitasi dan dialisis menjadi 4,161%. Berdasarkan hasil identifikasi gugus fungsi menggunakan spektrofotometer FTIR, menunjukkan bahwa protein hasil isolasi dari lembaga jagung yang telah didialisis mengandung empat pita serapan yang memiliki bilangan gelombang yang sesuai dengan protein jagung dari

beberapa literatur. Empat pita serapan tersebut diperkirakan mengandung albumin, globulin, glutelin, dan zein. Untuk memberikan justifikasi keberadaan keempat protein diatas, perlu dilakukan pemisahan berdasarkan berat molekulnya menggunakan SDS-PAGE.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dias Citra Nur Izas dan Gystha Najmi 'Ulya Ramadhani mahasiswa Program Studi D-III Analis Kimia Politeknik Negeri Bandung Angkatan 2018 yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., Zhou, Y., Ling, Z., Xiang, Q., & Zhou, X. (2016). Systematic elucidation of interactive unfolding and corona formation of bovine serum albumin with cobalt ferrite nanoparticles. *RSC Adv.*, 6(42), 35719–35730. <https://doi.org/10.1039/C6RA02850K>
- Duong-Ly, K. C., & Gabelli, S. B. (2014). Salting out of proteins using ammonium sulfate precipitation. *Methods in Enzymology*, 541, 85–94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420119-4.00007-0>
- Fatchiyah, F., Laras, E., Widyarti, S., & Rahayu, S. (2011). *Biologi Molekuler: Prinsip Dasar Analisis*. Erlangga, Jakarta Timur.
- Hao, J., Liu, G., Ou, Q., & Zhou, X. (2015). Study on FTIR Spectra of Corn Germs and Endosperms of Three Different Colors Combining with Cluster Analysis. *Agricultural Science & Technology*, 16(5).
- Jubaidah, S., Nurhasnawati, H., & Wijaya, H. (2017). Penetapan Kadar Protein Tempe Jagung (*Zea mays L.*) dengan Kombinasi Kedelai (*Glycine max (L.) Merill*) Secara Spektrofotometri Sinar Tampak. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1). <https://doi.org/10.51352/jim.v2i1.55>
- Kong, J., & Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8), 549–559. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7270.2007.00320.x>

- Li, N., Qi, G., Sun, X. S., Wang, D., Bean, S., & Blackwell, D. (2014). Isolation and characterization of protein fractions isolated from camelina meal. *Transactions of the ASABE*, 57(1), 169–178.
<https://doi.org/10.13031/trans.57.10455>
- Mayasari, M. (2016). *Pemurnian Enzim Amilase Kasar Dari Bakteri Amilolitik Endogenous Bekatul Secara Parsial Menggunakan Ammonium Sulfat*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Meng, G., & Ma, C.-Y. (2002). Characterization of globulin from Phaseolus angularis (red bean). *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 687–695.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00601.x>
- Miao, Y., Yang, R., Deng, D. Y. B., & Zhang, L.-M. (2017). Poly(L-lysine) modified zein nanofibrous membranes as efficient scaffold for adhesion, proliferation, and differentiation of neural stem cells. *RSC Adv.*, 7(29), 17711–17719.
<https://doi.org/10.1039/C7RA00189D>
- Montiel, L.-F., Martinez-Ayala, A., Corriño, R., Arzate-Vázquez, I., Zaca-Morán, P., & Rojas-López, M. (2018). Characterization of Biodegradable Nanocomposite Films Prepared with Glutelin from *Jatropha curcas* L. by Response Surface Methodology and Infrared Spectroscopy. *Analytical Letters*, 52, 1–16.
<https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1470637>
- Nasution, U. J., Wijaya, S. M., Wibisana, A., Safarrida, A., Rachmawati, I., Puspitasari, D. J., Naim, S., Mahsunah, A. H., Wulyoadi, S., & Suyanto, S. (2018). Pemurnian Enzim Sefalosporin-C Asilase dan Optimasi Proses Kromatografi Penukar Ion. *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 5(2 SE-Research Articles), 119–126.
<https://doi.org/10.29122/jbbi.v5i2.2902>
- Naves, M. M. V., Castro, M. V. L. de, Mendonça, A. L. de, Santos, G. G., & Silva, M. S. (2011). Corn germ with pericarp in relation to whole corn: nutrient contents, food and protein efficiency, and protein digestibility-corrected amino acid score. *Food Science and Technology*, 31, 264–269.
- Nuraini, D. (2019). Kajian Teknik Pengolahan Susu Jagung manis (*Zea mays Saccharata*) Ditinjau dari Sifat Kimia dan Organoleptik [Skripsi]. Institut Teknologi Sains dan Kesehatan PKU Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
<http://repository.itspku.ac.id/id/eprint/10>
- Oudemans, T., Boon, J., & Botto, R. (2007). FTIR and solid-state ¹³C CP/MAS NMR spectroscopy of charred and non-charred solid organic residues preserved in Roman Iron Age vessels from the Netherlands. *Archaeometry*, 49, 294–571.
<https://doi.org/10.1111/j.1475-4754.2007.00321.x>
- Shaikh, S., Khatri, Z., Oh, K. W., Kim, I.-S., & Kim, S. (2014). Zein/Cellulose Acetate Hybrid Nanofibers: Electrospinning and Characterization. *Macromolecular Research*, 22, 971–977.
<https://doi.org/10.1007/s13233-014-2136-4>
- Suarni, S., & Widowati, S. (2007). Struktur, Komposisi, dan Nutrisi Jagung. *Jagung: Teknik Produksi Dan Pengembangan*, 410–426.
- Using the ConcentratIR2 to Analyze the Bovine Gamma Globulin.* (2016). Harrick Scientific Products, Inc.
<https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=13192>, diakses 20 Agustus 2021
- Wang, C., He, H., Zhang, J.-L., Li, X., & Ma, Z.-L. (2016). High performance liquid chromatography (HPLC) fingerprints and primary structure identification of corn peptides by HPLC-diode array detection and HPLC-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(1), 95–104.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.05.005>