

Research Article**Simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, and parabens in dietary supplements by HPLC-PDA: Method validation and dietary exposure assessment**

**Tran Thi Kim Sa¹, Duong Huu Huy^{2,*}, Huynh Thi Le Dung², Nguyen Thi Huong¹,
Pham Ngoc Lien¹, Le Thi Thuy Tien¹**

¹*Center for Disease Control of Tay Ninh Province, Tay Ninh, Vietnam*

²*Faculty of Food Science and Technology, Ho Chi Minh City University of Industry and Trade,
Ho Chi Minh City, Vietnam*

(Received: 27 Jul 2026, Revised: 18 Sep 2026, Accepted: 21 Sep 2026)

Abstract

A high-performance liquid chromatography coupled with photodiode array detection (HPLC-PDA) method was developed and validated for the simultaneous determination of nine preservatives, including benzoic acid (BA), sorbic acid (SA), methylparaben (MP), ethylparaben (EP), propylparaben (PP), isopropylparaben (iPP), phenylparaben (PheP), butylparaben (BP), and isobutylparaben (iBP), in dietary supplements. Samples were extracted by ultrasound-assisted extraction with 80% methanol for 10 min and purified using Carrez reagents. Chromatographic separation was performed on a SilicaChrom® C18 column using methanol and 20 mM ammonium acetate buffer (pH 4.3) under gradient elution, with detection at 230 nm for BA and 254 nm for the remaining analytes, and an injection volume of 20 µL. The method was validated according to the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH Q2(R2)) guideline and demonstrated satisfactory specificity, linearity, sensitivity, accuracy, precision, and robustness. Working ranges were 0.5 - 20 mg/L for most analytes, with limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) of 0.02 - 1.34 mg/kg and 0.07 - 4.07 mg/kg, respectively. Recoveries ranged from 90.8% to 109.2%, and repeatability and intermediate precision showed relative standard deviations below 2%. The method was applied to the analysis of 41 commercial health supplement samples. The estimated dietary exposure levels of the detected preservatives were below the corresponding acceptable daily intake (ADI) values established by JECFA. However, when compared with the current Vietnamese regulation QCVN 4-12:2010/BYT, the estimated exposure exceeded the corresponding ADI for some products, particularly among children.

Keywords: *HPLC, dietary supplements, preservatives, parabens, dietary exposure assessment.*

*Corresponding author: Duong Huu Huy (E-mail: huydh@huit.edu.vn)

<https://doi.org/10.47866/2615-9252/vjfc.4760>

Copyright © 2026 The author(s). This article is licensed under [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Xác định đồng thời acid benzoic, acid sorbic và các paraben trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng HPLC-PDA: Thẩm định phương pháp và đánh giá mức phơi nhiễm

**Trần Thị Kim Sa¹, Dương Hữu Huy², Huỳnh Thị Lê Dung², Nguyễn Thị Hương¹,
Phạm Ngọc Liên¹, Lê Thị Thủy Tiên¹**

¹Trung tâm Kiểm soát bệnh tật tỉnh Tây Ninh, Tây Ninh, Việt Nam

²Khoa Công nghệ thực phẩm, Trường Đại học Công Thương TP.HCM, TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam

Tóm tắt

Nghiên cứu được thực hiện nhằm phát triển và thẩm định phương pháp HPLC-PDA để xác định đồng thời chín chất bảo quản thực phẩm gồm acid benzoic (BA), acid sorbic (SA), methylparaben (MP), ethylparaben (EP), propylparaben (PP), isopropylparaben (iPP), phenylparaben (PheP), butylparaben (BP) và isobutylparaben (iBP) trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe (TPBVSK), đồng thời ứng dụng phương pháp để khảo sát hàm lượng và ước tính mức phơi nhiễm qua chế độ ăn. Mẫu được xử lý bằng phương pháp chiết siêu âm với methanol 80% trong 10 phút, kết hợp với làm sạch bằng thuốc thử Carrez. Quá trình phân tích được thực hiện trên cột SilicaChrom[®] C18 với methanol và đệm amoni acetat pH 4,3 theo chương trình gradient, tốc độ dòng là 1,0 mL/phút, nhiệt độ cột là 30°C và thể tích tiêm là 20 µL. Tín hiệu được ghi nhận ở bước sóng 230 nm cho BA và 254 nm cho các chất còn lại. Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn của Hội đồng quốc tế về hài hòa các yêu cầu kỹ thuật đối với dược phẩm sử dụng cho con người (ICH Q2(R2)) và đáp ứng các tiêu chí về tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ đúng và độ chụm. Đường chuẩn được xây dựng trong khoảng 0,5 - 20 mg/L với hệ số tương quan lớn hơn 0,995. Giá trị LOD và LOQ của phương pháp lần lượt dao động trong khoảng 0,02 - 1,34 mg/kg và 0,07 - 4,07 mg/kg. Độ thu hồi đạt 90,8% - 109,2%, trong khi độ lặp lại và độ lặp lại trung gian đều có RSD < 2%. Phương pháp được áp dụng để phân tích 41 mẫu TPBVSK thương mại. Kết quả ước tính mức phơi nhiễm bước đầu cho thấy giá trị phơi nhiễm của các chất bảo quản được phát hiện thấp hơn lượng ăn vào hằng ngày chấp nhận được (ADI) theo Ủy ban hỗn hợp các chuyên gia về phụ gia thực phẩm (JECFA), nhưng khi so với quy định hiện hành của Việt Nam (QCVN 4-12:2010/BYT) một số sản phẩm có giá trị cao hơn, đặc biệt với nhóm trẻ em.

Từ khóa: HPLC-PDA, thực phẩm bảo vệ sức khỏe, chất bảo quản thực phẩm, paraben, đánh giá phơi nhiễm.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất bảo quản là nhóm phụ gia thực phẩm được sử dụng nhằm kéo dài thời hạn sử dụng của sản phẩm thông qua việc ức chế sự phát triển của vi sinh vật và hạn chế các quá trình gây hư hỏng thực phẩm [1]. Trong công nghệ thực phẩm, các chất bảo quản được sử dụng phổ biến bao gồm các acid hữu cơ yếu như acid benzoic (BA), acid sorbic (SA) và các muối tương ứng, cùng với một số paraben như methylparaben (MP) và ethylparaben (EP) được phép sử dụng trong một số nhóm thực phẩm theo quy định hiện hành [2]. Mặc dù các chất bảo quản này được xem là an toàn khi sử dụng đúng liều lượng, việc sử dụng vượt mức cho phép hoặc không đúng quy định có thể gây ra những ảnh hưởng bất lợi đến sức khỏe người tiêu dùng [3-5]. Đối với nhóm paraben, một số hợp chất như propylparaben (PP), butylparaben (BP), isopropylparaben (iPP), isobutylparaben (iBP) và phenylparaben (PheP) đã bị Ủy ban Châu Âu cấm sử dụng ngay cả trong mỹ phẩm do những lo ngại về tính an toàn [6].

Thực phẩm bảo vệ sức khỏe (TPBVSK) là một nhóm trong khái niệm chung về thực phẩm chức năng bao gồm thực phẩm bổ sung, thực phẩm dinh dưỡng y học và thực phẩm dùng cho chế độ ăn đặc biệt [2]. Thị trường TPBVSK đang phát triển nhanh với sự đa dạng về chủng loại, thành phần và nguồn gốc xuất xứ, dẫn đến sự khác biệt về chất lượng sản phẩm. Vì vậy, việc xây dựng các phương pháp phân tích tin cậy để kiểm soát hàm lượng các chất bảo quản trong nhóm sản phẩm này có ý nghĩa quan trọng đối với công tác quản lý chất lượng và bảo đảm an toàn thực phẩm.

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là phương pháp được sử dụng rộng rãi trong phân tích các chất bảo quản nhờ độ nhạy, độ chọn lọc và khả năng định lượng tốt. Tuy nhiên, các phương pháp đã công bố chủ yếu tập trung vào việc xác định đồng thời BA và SA [7] hoặc riêng nhóm paraben [8], trong khi các phương pháp cho phép xác định đồng thời cả hai nhóm chất bảo quản trong nền TPBVSK còn tương đối hạn chế [9]. Bên cạnh đó, rất ít nghiên cứu đồng thời khảo sát các paraben ít phổ biến như iPP, PheP, iBP, BP trong cùng một quy trình phân tích.

Việc xác định đồng thời nhiều chất bảo quản thực phẩm không mặc định rằng tất cả các chất đều đồng thời có mặt trong một sản phẩm, mà hướng đến xây dựng một phương pháp phân tích nhiều chất có khả năng sàng lọc và định lượng nhiều chất trong cùng một lần phân tích. Cách tiếp cận này có thể góp phần giảm thời gian phân tích, lượng dung môi sử dụng và nguồn lực cần thiết so với việc phân tích riêng từng nhóm chất, đồng thời tạo thuận lợi cho hoạt động giám sát các chất bảo quản trong TPBVSK, bao gồm cả những trường hợp sử dụng không phù hợp hoặc không được công bố.

Xuất phát từ những yêu cầu trên, mục tiêu của nghiên cứu này là phát triển và thẩm định phương pháp HPLC-PDA để xác định đồng thời chín chất bảo quản gồm BA, SA, MP, EP, PP, iPP, PheP, iBP và BP trong TPBVSK. Sau khi thẩm định, phương pháp được áp dụng để phân tích hàm lượng của chín chất này trong mẫu TPBVSK lưu hành trên thị trường và ước tính mức phơi nhiễm của người tiêu dùng đối với các chất bảo quản được định lượng.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm chín chất bảo quản, bao gồm BA, SA, MP, EP, PP, iPP, PheP, iBP và BP. Các mẫu TPBVSK được khảo sát thuộc nhiều dạng bào chế khác nhau gồm bột uống, viên nén, viên nang cứng, viên nang mềm, viên ngậm và dung dịch uống. Mẫu được thu thập tại các nhà thuốc đạt tiêu chuẩn Thực hành tốt nhà thuốc (GPP) trên địa bàn tỉnh Tây Ninh.

Hai mẫu TPBVSK thương mại thuộc dạng bào chế rắn được lựa chọn để khảo sát và tối ưu quy trình xử lý mẫu, gồm mẫu viên nang và mẫu viên nén. Mẫu viên nang chứa cao bạch quả, cao giảo cổ lam, men gạo đỏ, magie oxit và một số thành phần hoạt chất khác. Ngoài ra, mẫu còn có chất bảo quản nipagin và nipasol. Mẫu viên nén chứa chủ yếu vỏ quả măng cụt, than hoạt tính, bột sắn và các thành phần hoạt chất khác. Mẫu viên nén đồng thời có chứa chất bảo quản sodium benzoate và potassium sorbate.

Mẫu trắng trong thí nghiệm thẩm định phương pháp cũng có dạng bào chế rắn với thành phần gồm sodium hydrocarbonate, acid citric khan, đường trắng, manitol, aspartam, màu thực phẩm (sunset yellow) và bột hương cam thực phẩm tổng hợp. Mẫu trắng được lựa chọn dựa trên nhãn công bố không chứa các chất bảo quản như trong nghiên cứu này. Sau đó, dịch chiết mẫu trắng được tiêm vào hệ thống HPLC-PDA để đánh giá mức độ phù hợp của mẫu trắng, đảm bảo không chứa các chất phân tích mục tiêu.

2.2. Hóa chất và chất chuẩn

Các chất chuẩn gồm BA (99,5%), SA (99,7%) và iPP (99,9%) được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (Hoa Kỳ). Các chất chuẩn khác gồm MP (100%), EP (99,9%), PP (99,9%), BP (99,9%), iBP (100%) và PheP (99,9%) được mua từ Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh (Việt Nam). Methanol (MeOH) tinh khiết cấp HPLC, acid acetic (CH_3COOH), ammonia (NH_3), ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) và zinc sulfate ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) được cung cấp bởi Merck (Đức). Potassium ferrocyanide ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) được mua từ Thermo Scientific (Hoa Kỳ). Dung dịch thuốc thử Carrez I thu được bằng cách hòa tan potassium ferrocyanide vào nước cất với nồng độ là 15%, còn dung dịch Carrez II thu được bằng cách hòa tan zinc sulfate vào nước cất với nồng độ là 30%. Nước siêu tinh khiết, có điện trở suất 18 M Ω .cm, được sử dụng trong toàn bộ quá trình chuẩn bị dung dịch, xử lý mẫu và phân tích.

2.3. Thiết bị

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC Shimadzu LC-20A (Shimadzu, Nhật Bản), gồm bơm LC-20AD, bộ tiêm mẫu tự động SIL-20A và đầu dò mảng diode quang (PDA) SPD-M20A, được sử dụng để phân tích chín chất bảo quản thực phẩm. Quá trình phân tách được thực hiện trên cột SilicaChrom® C18 (150 × 4,6 mm; 5 μm). Thiết bị siêu âm Elmasonic (model: S300H) và máy ly tâm Hermle (model: Z206A) được sử dụng trong quá trình xử lý mẫu.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp phân tích

Phương pháp HPLC-PDA được sử dụng trong nghiên cứu này để xác định đồng thời chín chất bảo quản. Dựa trên các công trình đã công bố [9-11], các điều kiện sắc ký ban đầu gồm pha động methanol và đệm amoni acetat (pH 4,3), tốc độ dòng 1,0 mL/phút, nhiệt độ cột 30°C và bước sóng phát hiện 230 nm đối với BA và 254 nm đối với các chất còn lại được lựa chọn. Các điều kiện này được áp dụng trên hệ thống HPLC-PDA của phòng thí nghiệm để đánh giá khả năng phân tách đồng thời chín chất bảo quản. Ảnh hưởng của loại cột C18 (250 × 4,6 mm và 150 × 4,6 mm; 5 μm) và thể tích tiêm (10 và 20 μL) được khảo sát ở mức thăm dò để lựa chọn điều kiện phù hợp hơn. Trên cơ sở các điều kiện đã chọn, nghiên cứu tập trung vào việc khảo sát chương trình rửa giải của pha động nhằm cải thiện khả năng phân tách chín chất phân tích. Các chương trình rửa giải được đánh giá dựa trên thời gian phân tích và độ phân giải (Rs) giữa các peak, từ đó lựa chọn điều kiện sắc ký phù hợp.

2.4.2. Phương pháp xử lý mẫu

Phương pháp chiết siêu âm được sử dụng để xử lý mẫu trong nghiên cứu này. Điều kiện xử lý mẫu được khảo sát trên hai mẫu TPBVSK dạng rắn, gồm một mẫu viên nén và một mẫu viên nang. Hai mẫu được lựa chọn dựa trên thông tin công bố có chứa các chất bảo quản thuộc hai nhóm có tính chất hóa lý khác biệt: acid hữu cơ gồm BA/SA và paraben (hợp chất ester) gồm MP và PP. Các yếu tố khảo sát gồm thời gian siêu âm (t phút), tỷ lệ dung môi chiết trên khối lượng mẫu (mL/g) và thành phần dung môi chiết (% MeOH).

Quy trình xử lý mẫu được tham khảo từ nghiên cứu của So và cộng sự [9] với một số điều chỉnh cho phù hợp như sau: cân chính xác khoảng $1,00 \pm 0,05$ g mẫu bằng cân phân tích có độ đọc 0,0001 g, thêm V mL dung môi chiết, lắc đều và siêu âm trong thời gian t phút theo điều kiện khảo sát. Sau đó, mẫu được làm sạch bằng hỗn hợp thuốc thử Carrez gồm 1 mL Carrez I, lắc đều và 1 mL Carrez II. Sau khi lắc vortex 5 phút, mẫu được ly tâm tại $4500 \times g$ trong 5 phút. Phần dịch lỏng được thu vào bình định mức 20 mL, phần bã được chiết lặp lại hai lần, mỗi lần bằng 4 mL dung dịch đệm amoni acetat (pH 4,3). Gộp toàn bộ dịch chiết và định mức đến 20 mL. Mẫu được pha loãng thích hợp trong pha động và lọc qua đầu lọc nylon 0,45 μm trước khi phân tích. Thời gian siêu âm được khảo sát ở 0 (lắc tay dung dịch 5 phút), 5, 10 và 20 phút với 4 mL MeOH 100%; tỷ lệ dung môi/mẫu được khảo sát ở 4 và 8 mL/g; và thành phần dung môi được khảo sát với MeOH ở các nồng độ 30, 50, 80 và 100% (v/v). Điều kiện tối ưu được lựa chọn dựa trên hàm lượng chất phân tích thu được và tính phù hợp của quy trình xử lý mẫu.

2.4.3. Thẩm định phương pháp

Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn của ICH Q2(R2) về thẩm định quy trình phân tích [12], với các tiêu chí chấp nhận được tham chiếu theo AOAC phụ lục F [13]. Các thông số thẩm định được đánh giá, gồm: tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, khoảng làm việc, LOD và LOQ, độ đúng thông qua độ thu hồi, độ lặp lại, độ chụm trung gian và độ vững của phương pháp.

Tính phù hợp của hệ thống được khảo sát bằng cách tiêm lặp lại sáu lần hỗn hợp chuẩn gồm chín chất bảo quản tại nồng độ 5 mg/L vào hệ thống HPLC-PDA. Sau đó, độ lặp lại của thời gian lưu và diện tích peak, hệ số kéo đuôi (T) và số đĩa lý thuyết.

Độ đặc hiệu được đánh giá bằng cách khảo sát mẫu trắng TPBVSK, mẫu trắng thêm chuẩn và hỗn hợp dung dịch chuẩn tại mức 5 mg/L.

Khoảng tuyến tính được đánh giá bằng cách chuẩn bị hỗn hợp các dung dịch chuẩn trong khoảng từ 0,1 đến 100 mg/L. Sau đó, khoảng làm việc của đường chuẩn được xây dựng trong khoảng tuyến tính để phục vụ cho mục đích định lượng.

LOD và LOQ được ước lượng bằng cách phân tích lặp lại sáu lần mẫu trắng TPBVSK thêm chuẩn ở nồng độ thấp (2 mg/kg). Sau đó, LOD và LOQ được ước lượng theo công thức sau [12]:

$$\text{LOD} = 3,3 \times \text{SD}/S$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{SD}/S$$

trong đó, SD là độ lệch chuẩn của diện tích peak từ sáu lần đo lặp lại mẫu trắng thêm chuẩn, S là hệ số góc của đường chuẩn.

Độ đúng của phương pháp được đánh giá thông qua độ thu hồi. Cụ thể, độ thu hồi được khảo sát tại 3 mức nồng độ thêm chuẩn 100, 200 và 300 mg/kg, tương ứng với 3 mức nồng độ trong dung dịch đo 5, 10 và 15 mg/L. Ba mức thêm chuẩn này nằm trong khoảng đường chuẩn từ 0,5 đến 20 mg/L. Mỗi mức thêm chuẩn được thực hiện tối thiểu ba lần lặp lại. Từ đó, độ thu hồi (R , %) và độ lặp lại (RSD_r , %) được tính toán theo công thức sau:

$$R (\%) = \frac{C_{do}}{C_{thêm}} \times 100\%$$

$$RSD_r (\%) = \frac{SD}{\bar{C}} \times 100\%$$

trong đó, C_{do} và $C_{thêm}$ lần lượt là nồng độ các chất bảo quản đo được và thêm vào mẫu trắng, SD là độ lệch chuẩn của các lần đo lặp lại tại mỗi mức thêm chuẩn. $\bar{C}$ là nồng độ trung bình của các chất bảo quản tại mỗi mức thêm chuẩn.

Ngoài ra, độ lặp lại trung gian cũng được đánh giá bằng cách thực hiện lặp lại các thí nghiệm thu hồi ở ba ngày khác nhau cùng với các mức thêm chuẩn 100, 200 và 300 mg/kg. Sau đó, độ lặp lại trung gian (RSD_R , %) được tính theo công thức sau:

$$RSD_R (\%) = \frac{SD_R}{\bar{C}} \times 100\%$$

trong đó, SD_R là độ lệch chuẩn của các lần đo lặp lại tại mỗi mức thêm chuẩn của toàn bộ các ngày thí nghiệm, $\bar{C}$ là nồng độ trung bình của các chất bảo quản tại mỗi mức thêm chuẩn tương ứng.

Độ vững của phương pháp được đánh giá bằng cách thay đổi có chủ đích một số điều kiện phân tích quanh giá trị nghiên cứu, bao gồm pH của dung dịch đệm amoni acetat và nhiệt độ cột sắc ký. Cụ thể, pH của dung dịch đệm được điều chỉnh ở hai mức 4,25 và 4,35, trong khi nhiệt độ cột được thay đổi ở 29°C và 31°C. Các thí nghiệm được thực hiện trên mẫu thêm chuẩn ở mức nồng độ 200 mg/kg theo quy trình phân tích đã thiết lập. Sau đó, sai lệch thời gian lưu và hiệu suất thu hồi giữa hai điều kiện (điều kiện ban đầu và điều kiện thay đổi) được tính toán.

2.4.4. Phương pháp ước tính liều phơi nhiễm

Mức phơi nhiễm qua chế độ ăn uống được ước tính dựa trên hàm lượng chất bảo quản định lượng được trong các mẫu TPBVSK và lượng tiêu thụ sản phẩm. Trong nghiên cứu này, tổng cộng 41 mẫu TPBVSK được mua trực tiếp từ các nhà thuốc có chứng nhận GPP trên địa bàn tỉnh Tây Ninh, với đầy đủ nhãn mác, còn hạn sử dụng. Sau đó, mẫu được phân tích trên thiết bị HPLC-PDA tại điều kiện phân tích đã chọn. Hàm lượng chất phân tích C (mg/kg) có trong mẫu được tính theo công thức:

$$C \text{ (mg/kg)} = \frac{C_x \times V}{m} \times F$$

trong đó, C_x là nồng độ chất phân tích có trong dung dịch đo (mg/L), V là thể tích bình định mức (mL), m là khối lượng mẫu (g), F hệ số pha loãng (nếu có).

Dựa trên kết quả hàm lượng chất nghiên cứu có trong mẫu, hướng dẫn liều dùng của nhà sản xuất, trọng lượng cơ thể tham khảo từ Tổ chức Y tế thế giới (WHO), liều phơi nhiễm các chất bảo quản này được ước lượng thông qua qua con đường ăn uống. Cụ thể, liều phơi nhiễm hàng ngày qua chế độ ăn uống (DE , mg/kg thể trọng/ngày) được tính theo công thức sau [14]:

$$DE = \frac{C \times D}{BW}$$

trong đó, C là hàm lượng chất phân tích có trong mẫu thực phẩm (mg/kg), D là lượng thực phẩm tiêu thụ (kg/ngày), BW là trọng lượng cơ thể (kg).

DE được ước lượng theo từng nhóm tuổi. Trọng lượng cơ thể giả định được sử dụng lần lượt là 12 kg đối với trẻ dưới 2 tuổi, 20 kg đối với trẻ từ 2 – 6 tuổi, 35 kg đối với trẻ từ 6 – 12 tuổi và 55 kg đối với đối tượng trên 12 tuổi [15].

Số liệu phân tích và ước lượng liều phơi nhiễm được xử lý bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Lựa chọn điều kiện tách sắc ký

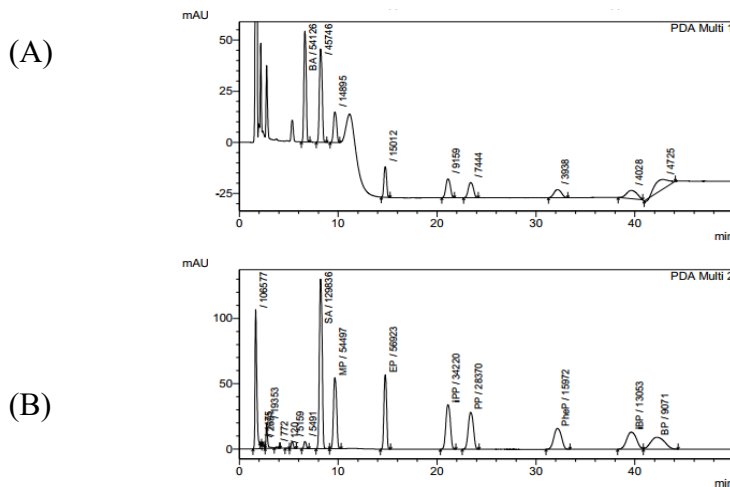
Chương trình pha động được nghiên cứu chi tiết nhằm lựa chọn được điều kiện tách phù hợp cho chín chất bảo quản thực phẩm trên thiết bị HPLC-PDA. **Bảng 1** là chương trình gradient pha động phù hợp được áp dụng trong nghiên cứu này.

Bảng 1. Chương trình gradient pha động. Pha động A là methanol và pha động B là đệm acetat 20 mM (pH 4,3)

STT	Thời gian (phút)	Tỷ lệ A:B
1	0,00 – 6,00	40:60
2	6,01 – 36,00	50:50
3	36,01 – 48,00	47:53
4	48,01 – 55,00	40:60

Hình 1 trình bày sắc ký đồ của chín chất bảo quản thực phẩm thu được trong điều kiện sắc ký được chọn. Tại bước sóng 230 nm, đường nền xuất hiện hiện tượng sụt tín hiệu do sự thay đổi thành phần pha động trong chương trình rửa giải gradient. Hiện tượng này thường gặp khi sử dụng đầu dò PDA kết hợp với các dung môi có độ hấp thụ UV khác nhau. Tuy nhiên, sự biến động của đường nền không ảnh hưởng đến việc định lượng BA do tín hiệu nền ổn định tại thời gian lưu của hợp chất này (**Hình 1**). Trong khi đó, tại bước sóng 254 nm, đường nền duy trì ổn định trong toàn bộ quá trình phân tích, cho phép xác định chính xác SA và các paraben.

Đánh giá hiệu năng sắc ký cho thấy tất cả các hợp chất đều được tách với số đĩa lý thuyết (N) lớn hơn 2000, chứng tỏ cột sắc ký có hiệu quả tách tốt. Hệ số kéo đuôi của các peak nằm trong khoảng 0,949 – 1,017, cho thấy các peak có dạng đối xứng và không xuất hiện hiện tượng kéo đuôi đáng kể. Độ phân giải (R_s) nhỏ nhất ghi nhận đối với cặp đồng phân BP và iBP là 1,479, trong khi các cặp peak còn lại đều có R_s lớn hơn 2,0. Mặc dù giá trị R_s của cặp BP và iBP xấp xỉ ngưỡng lý tưởng 1,5, nhưng quan sát trên sắc ký đồ cho thấy các peak này vẫn được phân tách rõ ràng và không xảy ra hiện tượng chồng lấp ảnh hưởng đến quá trình nhận diện và định lượng. Nhìn chung, các kết quả thu được chứng minh rằng điều kiện sắc ký được thiết lập trong nghiên cứu này có khả năng phân tách hiệu quả và đồng thời chín chất bảo quản, đáp ứng yêu cầu cho các bước thẩm định và phân tích mẫu thực tế tiếp theo.



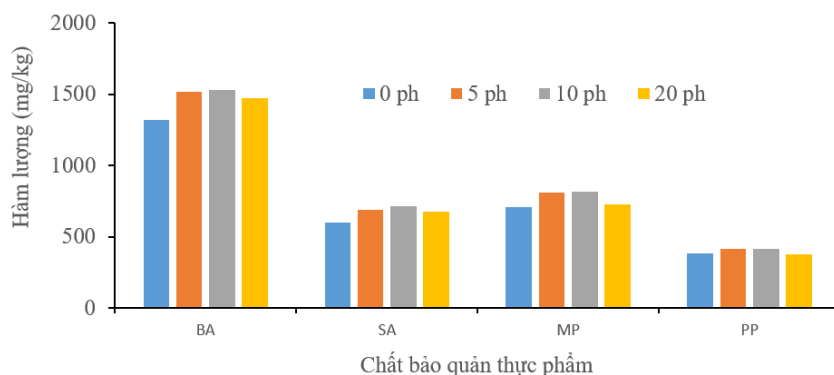
Hình 1. Sắc ký đồ chuẩn của các chất bảo quản ở nồng độ 5 mg/L. (A) đo tại bước sóng 230 nm và (B) đo tại bước sóng 254 nm

3.2. Khảo sát lựa chọn điều kiện xử lý mẫu

3.2.1. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm

Thời gian siêu âm là một trong những yếu tố có thể ảnh hưởng đến quá trình chiết các chất bảo quản từ nền mẫu rắn, do quá trình siêu âm làm tăng sự tiếp xúc giữa dung môi và mẫu, qua đó thúc đẩy sự di chuyển của các chất phân tích vào pha dung môi chiết. Trong nghiên cứu này, thời gian siêu âm được khảo sát ở bốn mức

gồm 0, 5, 10 và 20 phút; trong đó, điều kiện 0 phút tương ứng với việc chỉ lắc mẫu bằng tay trong 5 phút, không thực hiện siêu âm, được xem như mẫu đối chứng cho quá trình chiết siêu âm. Để đánh giá riêng ảnh hưởng của thời gian siêu âm, các điều kiện khác được giữ cố định, bao gồm khối lượng mẫu $1,00 \pm 0,05$ g, thể tích dung môi chiết 4 mL MeOH 100% (v/v), phương pháp lắc mẫu, điều kiện xử lý bằng thuốc thử Carrez, thể tích định mức cuối cùng và các điều kiện phân tích HPLC-PDA. Kết quả trình bày ở **Hình 2** cho thấy hàm lượng của bốn chất bảo quản đại diện (BA, SA, MP và PP) trong hai mẫu TPBVSK đều tăng khi thời gian siêu âm tăng từ 0 đến 10 phút và đạt giá trị cao nhất tại 10 phút. Khi tiếp tục kéo dài thời gian siêu âm đến 20 phút, hàm lượng các chất phân tích không tăng thêm đáng kể và có xu hướng giảm nhẹ đối với một số chất. Do đó, thời gian siêu âm 10 phút được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo, nhằm đảm bảo khả năng chiết phù hợp, đồng thời hạn chế thời gian xử lý mẫu.

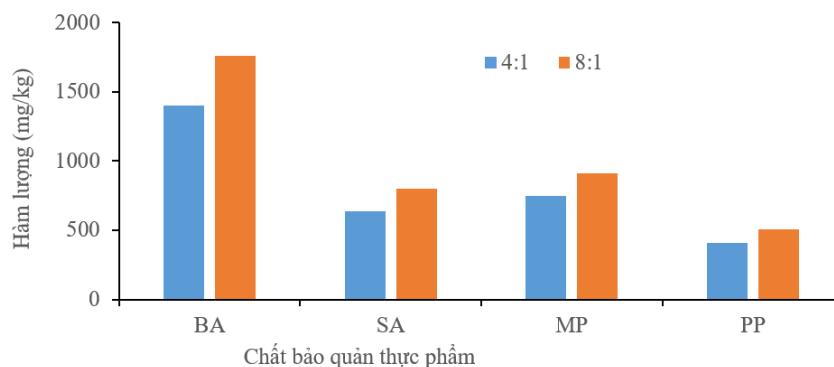


Hình 2. Ảnh hưởng của thời gian siêu âm đến hàm lượng các chất phân tích.

Thể tích dung môi chiết và nồng độ MeOH được giữ cố định lần lượt ở 4 mL và 100% (v/v).

Điều kiện chiết 0 phút tương ứng với việc chiết lắc tay 5 phút, không thực hiện siêu âm

3.2.2. Ảnh hưởng của tỷ lệ thể tích dung môi chiết trên khối lượng mẫu



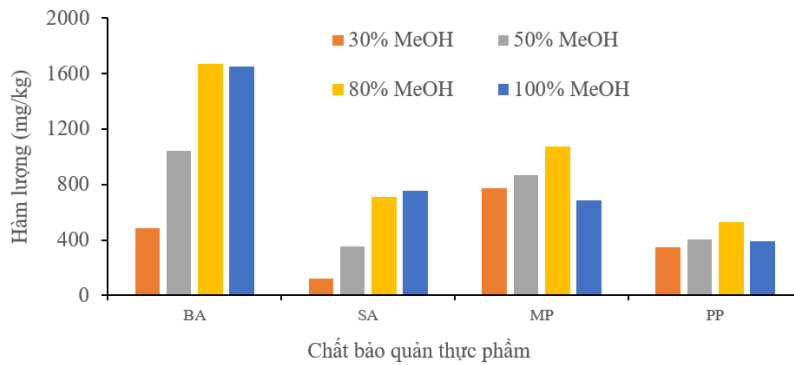
Hình 3. Ảnh hưởng của tỷ lệ thể tích dung môi chiết trên khối lượng mẫu đến hàm lượng các chất phân tích.

Thời gian siêu âm và nồng độ MeOH được giữ cố định lần lượt ở 10 phút và 100% (v/v)

Tỷ lệ thể tích dung môi chiết trên khối lượng mẫu là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến khả năng chiết các chất bảo quản từ nền mẫu rắn. Trong nghiên cứu này, MeOH được lựa chọn làm dung môi chiết do có khả năng hòa tan phù hợp đối với các chất phân tích và tương thích với hệ pha động HPLC-PDA. Sau khi lựa chọn thời gian siêu âm 10 phút, ảnh hưởng của tỷ lệ thể tích MeOH trên khối lượng mẫu được khảo sát ở hai mức 4:1 và 8:1 mL/g. Trong khảo sát này, khối lượng mẫu được giữ ở $1,00 \pm 0,05$ g, nồng độ MeOH 100% (v/v), thời gian siêu âm 10 phút và các điều kiện xử lý mẫu sau chiết được giữ cố định. Kết quả trình bày ở **Hình 3** cho thấy tỷ lệ 8:1 mL/g cho hàm lượng của cả bốn chất bảo quản đại diện (BA, SA, MP và PP) cao hơn so với tỷ lệ 4:1 mL/g ở cả hai mẫu khảo sát. Kết quả cho thấy việc tăng lượng dung môi chiết có thể tạo điều kiện thuận lợi hơn cho quá trình tiếp xúc và hòa tan các chất phân tích từ nền mẫu. Do đó, tỷ lệ MeOH trên khối lượng mẫu 8:1 mL/g được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.2.3. Ảnh hưởng của thành phần dung môi chiết

Thành phần dung môi chiết có thể ảnh hưởng đến khả năng hòa tan và giải phóng các chất bảo quản do sự khác biệt về tính chất hóa lý của chất phân tích và nền mẫu. Vì vậy, ảnh hưởng của thành phần MeOH trong nước được khảo sát tại các mức 30%, 50%, 80% và 100% (v/v). Trong khảo sát này, khối lượng mẫu được giữ cố định ở $1,00 \pm 0,05$ g, tỷ lệ dung môi trên khối lượng mẫu ở 8:1 mL/g, thời gian siêu âm 10 phút và các điều kiện xử lý mẫu sau chiết được giữ không đổi. Kết quả trình bày ở **Hình 4** cho thấy hàm lượng BA, MP và PP tăng theo thành phần MeOH và đạt giá trị cao nhất khi sử dụng MeOH 80%. Đối với SA, MeOH 100% cho hàm lượng thu được cao hơn so với MeOH 80%, tuy nhiên, sự chênh lệch không đáng kể. Việc bổ sung nước vào MeOH có thể cải thiện khả năng thấm ướt và tương tác giữa dung môi với nền mẫu, qua đó hỗ trợ quá trình giải phóng các chất phân tích, trong khi MeOH vẫn đảm bảo khả năng hòa tan phù hợp đối với các chất mục tiêu. Do đó, thành phần dung môi MeOH 80% (v/v) được lựa chọn làm dung môi chiết phù hợp trong nghiên cứu này.



Hình 4. Ảnh hưởng của thành phần dung môi chiết đến hàm lượng các chất phân tích.

Thời gian siêu âm và tỷ lệ dung môi/mẫu được giữ cố định lần lượt ở 10 phút và 8 mL/g

Từ kết quả khảo sát, quy trình xử lý mẫu được lựa chọn như sau: cân chính xác khoảng $1,00 \pm 0,05$ g mẫu vào ống ly tâm, thêm 8 mL MeOH 80% (v/v), lắc đều và siêu âm trong 10 phút. Sau đó, thêm lần lượt 1 mL Carrez I và 1 mL Carrez II, lắc vortex 5 phút và ly tâm. Phần dịch chiết được thu vào bình định mức 20 mL. Phần kết tủa được tráng rửa hai lần bằng nước cất, mỗi lần sử dụng 4 mL. Các dịch chiết được gộp lại và định mức đến vạch bằng dung dịch đệm. Dịch chiết sau đó được pha loãng bằng chính pha động có thành phần gồm 40% pha A + 60% pha B khi cần thiết, lọc qua màng lọc nylon 0,45 μ m và tiêm 20 μ L vào hệ thống HPLC-PDA để phân tích theo các điều kiện sắc ký đã lựa chọn.

Bảng 2. Kết quả đánh giá tính phù hợp hệ thống

Mục tiêu	BA	SA	MP	EP	iPP	PP	PheP	iBP	BP
RSD (%)	0,20	0,17	0,22	0,13	0,12	0,13	0,16	0,14	0,19
thời gian lưu									
(min) $\leq 1\%$									
RSD (%) diện	0,80	0,05	0,08	0,03	0,09	0,18	0,23	0,27	0,28
tích peak các									
chất phân tích									
$\leq 1\%$									
Hệ số kéo	0,94 ÷	0,96 ÷	0,97 ÷	0,98 ÷	0,96 ÷	0,96 ÷	0,96 ÷	0,96 ÷	1,02 ÷
đuôi:	0,95	0,97	0,97	0,99	0,97	0,97	0,97	0,97	1,04
$T \leq 2,0$									
Số đĩa lý	2169 ÷	2946 ÷	3375 ÷	15208	12220	11661	10186	9445 ÷	4999 ÷
thuyết:	2235	2981	3400	÷	÷	÷	÷	9570	5165
$N \geq 2000$				15354	12310	11738	10304		

3.3. Thẩm định phương pháp

3.3.1. Tính phù hợp hệ thống

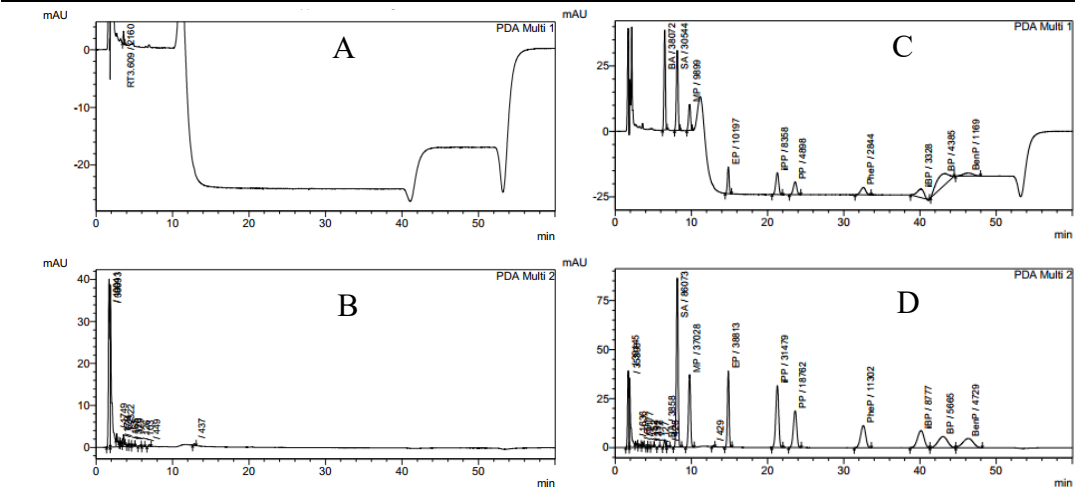
Tính phù hợp của hệ thống được đánh giá thông qua sáu lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn hỗn hợp ở nồng độ 5 mg/L. Kết quả trình bày trong **Bảng 2** cho thấy độ lặp lại của hệ thống tốt, với độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thời gian lưu và diện tích peak đều nhỏ hơn 1% đối với tất cả các chất phân tích. Bên cạnh đó, các peak sắc ký có hệ số kéo đuôi nằm trong giới hạn chấp nhận và số đĩa lý thuyết đều lớn hơn giá trị yêu cầu, chứng tỏ hệ thống sắc ký hoạt động ổn định và đáp ứng các tiêu chí về tính phù hợp của hệ thống.

3.3.2. Độ đặc hiệu

Độ đặc hiệu của phương pháp được đánh giá thông qua phân tích mẫu trắng TPBVSK, mẫu trắng thêm chuẩn và hỗn hợp dung dịch chuẩn 5 mg/L. Mẫu trắng được kiểm tra bằng thông tin trên nhãn và quan sát trên sắc ký đồ của dịch chiết mẫu trắng, đảm bảo không có peak lạ xuất hiện tại thời gian lưu của các chất bảo quản. Sắc ký đồ của mẫu trắng, mẫu trắng thêm chuẩn được biểu diễn trong **Hình 5**. Kết quả trình bày trong **Bảng 3** cho thấy không phát hiện tín hiệu của các chất phân tích tại thời gian lưu tương ứng trong mẫu trắng, chứng tỏ nền mẫu không gây nhiễu đến quá trình phân tích. Đồng thời, chênh lệch thời gian lưu giữa dung dịch chuẩn và mẫu trắng thêm chuẩn của tất cả các chất đều không vượt quá 0,1 phút, đáp ứng tiêu chí về độ đặc hiệu theo hướng dẫn ICH Q2(R2). Các kết quả này chứng minh phương pháp có khả năng nhận diện chính xác các chất phân tích trong nền mẫu mà không bị ảnh hưởng bởi các thành phần khác.

Bảng 3. Kết quả độ đặc hiệu

Nền mẫu	Thời gian lưu (phút)								
	BA	SA	MP	EP	iPP	PP	PheP	iBP	BP
Mẫu trắng	Không xuất hiện tín hiệu								
Mẫu chuẩn	6,437	8,076	9,686	14,809	21,239	23,579	32,525	40,101	42,971
Mẫu trắng thêm chuẩn	6,516	8,161	9,778	14,851	21,275	23,608	32,539	40,091	42,962
Thời gian sai lệch (phút)	0,079	0,085	0,092	0,042	0,036	0,029	0,014	-0,010	-0,009
Quy định	$\leq \pm 0,1$ phút								



Hình 5: Sắc ký đồ của mẫu trắng (A, B) và mẫu trắng thêm chuẩn 100 mg/kg (C, D).

Sắc ký đồ A và C được ghi tại bước sóng 230 nm, còn B và D được ghi tại bước sóng 254 nm

3.3.3. Khoảng tuyến tính, phạm vi làm việc, LOD và LOQ

Khoảng tuyến tính của phương pháp được khảo sát trong dải nồng độ 0,1 - 100 mg/L đối với BA, SA, MP, EP, iPP và PP; 0,2 - 100 mg/L đối với PheP và iBP. Trên cơ sở đó, đường chuẩn được xây dựng trong khoảng 0,5 - 20 mg/L đối với BA, SA, MP, EP, iPP, PP, PheP, iBP và BP để phục vụ định lượng. Kết quả về phương

trình đường chuẩn và hệ số xác định R^2 được trình bày trong **Bảng 4**. Nhìn chung, độ tuyến tính thu được là tin cậy cho toàn bộ chất bảo quản với $R^2 > 0,995$.

LOD và LOQ của phương pháp được xác định theo hướng dẫn ICH Q2 (R2) bằng cách thêm dung dịch chuẩn hỗn hợp pha loãng đến nồng độ thấp nhất có thể phát hiện vào mẫu trắng. Kết quả về LOD và LOQ của các chất phân tích được trình bày trong **Bảng 4**.

Bảng 4. Phương trình đường chuẩn, hệ số xác định, LOD và LOQ

Chất phân tích	Phương trình đường chuẩn	Hệ số xác định R^2	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
BA	$y = 86272x + 5639,7$	0,9999	0,23	0,69
SA	$y = 268531x + 11945$	1,0000	0,02	0,07
MP	$y = 121374x + 5955,3$	1,0000	0,04	0,12
EP	$y = 110821x + 4605,8$	1,0000	0,07	0,22
iPP	$y = 107534x + 2867,6$	1,0000	0,15	0,45
PP	$y = 102602x + 515,9$	0,9999	0,13	0,40
PheP	$y = 91016x - 36647$	0,9958	0,58	1,76
iBP	$y = 90125x - 14361$	0,9989	1,18	3,58
BP	$y = 90015x - 52967$	0,9986	1,34	4,07

3.3.4. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được đánh giá thông qua thí nghiệm thu hồi trên nền mẫu trắng. Các chất phân tích được thêm chuẩn vào mẫu ở ba mức nồng độ 100, 200 và 300 mg/kg để đánh giá mức độ gần nhau của kết quả phân tích ở các khoảng nồng độ này, sau đó được xử lý và phân tích theo quy trình đã lựa chọn. Mỗi mức thêm chuẩn được thực hiện với ít nhất ba mẫu lặp độc lập.

Kết quả trình bày trong **Bảng 5** cho thấy độ thu hồi của các chất phân tích nằm trong khoảng 90,8 - 109,2%. Các giá trị này nằm trong giới hạn chấp nhận theo AOAC phụ lục F [13], ngoại trừ giá trị độ thu hồi của BP là 109,2% cao hơn tiêu chí chấp nhận 107%. Kết quả này chứng tỏ phương pháp có độ thu hồi tin cậy và có khả năng xác định chính xác các chất bảo quản trong TPBVSK có nền mẫu tương tự.

Bảng 5. Kết quả độ thu hồi (R , %) và độ lặp lại (RSD_r , %)

Chất phân tích	100 mg/kg		200 mg/kg		300 mg/kg	
	RSD_r (%)	Độ thu hồi, R (%)	RSD_r (%)	Độ thu hồi, R (%)	RSD_r (%)	Độ thu hồi, R (%)
BA	0,39	100,15	0,13	98,63	0,13	101,48
SA	0,03	92,56	0,04	92,19	0,02	95,51
MP	0,06	104,27	0,09	98,20	0,20	101,87
EP	0,19	94,97	0,01	95,61	0,34	99,95
iPP	0,30	95,51	0,15	96,70	0,39	101,94
PP	0,21	96,50	0,25	97,96	0,44	104,50
PheP	0,05	91,30	0,50	90,83	0,72	105,70
iBP	0,32	94,86	0,36	96,72	0,51	106,14
BP	0,82	103,73	0,61	102,82	0,72	109,21

3.3.5. Độ chụm

Độ chụm của phương pháp được đánh giá thông qua hai thông số bao gồm độ lặp lại (RSD_r , %) và độ lặp lại trung gian (RSD_R , %). Độ lặp lại được xác định bằng cách phân tích tối thiểu ba mẫu lặp độc lập tại mỗi mức thêm chuẩn 100, 200 và 300 mg/kg theo quy trình đã chọn. Độ lặp lại trung gian được đánh giá bằng cách lặp lại thí nghiệm vào ba ngày khác nhau và mỗi ngày lặp lại thí nghiệm ba lần với cùng các mức thêm chuẩn của thí nghiệm độ lặp lại. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD , %) được sử dụng để đánh giá độ chụm của phương pháp. Kết quả được trình bày trong **Bảng 5** và **Bảng 6**.

Bảng 6. Kết quả độ thu hồi (%) và độ lặp lại trung gian (RSD_R , %)

Chất phân tích	100 mg/kg		200 mg/kg		300 mg/kg	
	RSD_R (%)	Độ thu hồi, R (%)	RSD_R (%)	Độ thu hồi, R (%)	RSD_R (%)	Độ thu hồi, R (%)
BA	0,13	100,53	0,16	99,29	0,10	101,33
SA	0,16	92,10	0,19	92,12	0,07	94,98
MP	0,09	104,28	0,18	98,43	0,10	101,60
EP	0,18	95,14	0,33	95,79	0,39	99,93
iPP	0,16	96,16	0,46	96,95	0,78	102,08
PP	0,21	97,50	0,52	98,32	0,93	104,82
PheP	0,34	91,22	0,89	89,86	1,41	108,88
iBP	0,11	98,05	0,81	97,33	1,44	104,67
BP	0,28	103,69	0,71	102,07	1,40	109,47

Kết quả cho thấy độ lặp lại của phương pháp đạt yêu cầu, với giá trị RSD_R dao động từ 0,04 - 0,34% (**Bảng 5**). Đối với độ lặp lại trung gian, các giá trị RSD_R nằm trong khoảng 0,07 - 1,44% (**Bảng 6**). Tất cả các giá trị RSD đều nằm trong mức chấp nhận là $\leq 5,3\%$, cho thấy sự ổn định của quy trình xử lý mẫu và hệ thống phân tích, đồng thời chứng tỏ phương pháp có độ chụm cao và đáp ứng yêu cầu thẩm định theo hướng dẫn của AOAC [13].

3.3.6. Độ vững của phương pháp

Độ vững của phương pháp được trình bày trong **Bảng 7** cho thấy sự thay đổi nhỏ về pH pha động và nhiệt độ cột chỉ làm thay đổi không đáng kể thời gian lưu của các chất phân tích, trong khi độ thu hồi của tất cả các hợp chất vẫn nằm trong giới hạn chấp nhận theo yêu cầu của AOAC [13]. Điều này chứng tỏ khả năng định lượng của phương pháp không bị ảnh hưởng đáng kể bởi các biến động nhỏ của điều kiện phân tích, khẳng định phương pháp có độ vững tốt và phù hợp để áp dụng trong phân tích thường quy.

Bảng 7. Kết quả độ vững của phương pháp

Chất phân tích	Sai lệch thời gian lưu (phút)				Độ thu hồi (%)			
	Đệm pH 4,25		Đệm pH 4,35		Đệm pH 4,25		Đệm pH 4,35	
	Nhiệt độ cột 29°C	Nhiệt độ cột 31°C	Nhiệt độ cột 29°C	Nhiệt độ cột 31°C	Nhiệt độ cột 29°C	Nhiệt độ cột 31°C	Nhiệt độ cột 29°C	Nhiệt độ cột 31°C
BA	0,21	0,03	0,14	-0,14	100,98	100,89	104,05	102,07
SA	0,18	-0,04	0,33	-0,02	94,34	94,34	98,44	96,77
MP	0,12	-0,19	0,81	0,30	99,37	99,52	103,72	102,31
EP	0,09	-0,18	0,79	0,31	96,74	96,84	100,92	99,10
iPP	0,19	-0,31	1,34	0,51	100,17	100,07	103,88	102,21
PP	0,25	-0,38	1,58	0,59	99,71	99,84	103,41	101,61
PheP	0,48	-0,63	2,57	0,92	97,55	97,61	100,52	99,15
iBP	0,59	-0,79	3,72	1,14	100,29	101,18	103,94	101,15
BP	0,90	-1,15	4,79	1,71	103,64	104,47	108,46	105,58

3.4. Phân tích mẫu thực và ước tính liều phơi nhiễm

3.4.1. Hàm lượng của chất bảo quản trong mẫu TPBVSK

Sau khi thẩm định, phương pháp được áp dụng để phân tích hàm lượng chín chất bảo quản trong 41 mẫu TPBVSK đang lưu hành trên thị trường ở Tây Ninh nhằm đánh giá hiện trạng sử dụng các chất bảo quản thực phẩm này. Đối với các sản phẩm có công bố thành phần chứa NB hoặc KS, hàm lượng của chúng được quy đổi tương ứng về BA và SA để thống nhất với các chất chuẩn sử dụng trong nghiên cứu. Kết quả phân tích được trình bày trong **Bảng 8**. Kết quả cho thấy, trong số 41 mẫu được khảo sát, có 22 mẫu không phát hiện các chất bảo quản thuộc phạm vi nghiên cứu. Đối với các mẫu có chứa chất bảo quản, chỉ phát hiện BA, SA, MP

và PP, trong khi EP, iPP, PheP, iBP và BP không được phát hiện trong bất kỳ mẫu nào. Kết quả bước đầu này cho thấy việc sử dụng các paraben ngoài danh mục phổ biến hoặc không được phép trong các sản phẩm thực phẩm khảo sát là không đáng ngại. Hiện nay, tại Việt Nam chưa tìm thấy quy định riêng về giới hạn tối đa của các chất bảo quản trong TPBVSK. Tuy nhiên, theo Phụ lục 2A của Thông tư số 24/2019/TT-BYT [2] quy định về quản lý và sử dụng phụ gia thực phẩm, đối với nhóm thực phẩm số 13, giới hạn tối đa của các chất bảo quản INS 200, 201, 202 và 203 được quy định trong khoảng 1.500 - 2.000 mg/kg, tính theo SA, trong khi các INS 210, 211, 212 và 213 được quy định ở mức 1.500 - 2.000 mg/kg, tính theo BA.

Bảng 8. Kết quả phân tích hàm lượng các chất bảo quản thực phẩm trong các mẫu TPBVSK

Kí hiệu mẫu	Dạng bảo chế	Hàm lượng chất bảo quản (mg/kg)				Kí hiệu mẫu	Dạng bảo chế	Hàm lượng chất bảo quản (mg/kg)			
		BA	SA	MP	PP			BA	SA	MP	PP
01L	DDU	2138,92	873,21	-	-	23R	VN	-	-	-	-
02R	Bột	-	-	-	-	24R	VNC	99,64	-	354,72	91,56
03R	VNC	-	-	-	-	25L	VNM	-	-	-	-
04L	DDU	2189,30	-	848,75	-	26L	VNM	-	-	1487,01	409,79
05R	Cốm	-	-	-	-	27L	DDU	-	-	811,21	-
06R	Bột	-	-	-	-	28L	DDU	1584,13	-	-	-
07L	DDU	-	-	-	-	29L	DDU	-	1048,38	-	-
08L	VNM	-	-	982,46	175,37	31R	Gel	277,68	165,60	-	-
09L	VNM	-	-	-	-	32L	DDU	-	-	-	-
10R	VNC	-	-	-	-	33R	VNC	1186,46	-	-	-
11R	VNM	-	-	1299,26	234,37	34R	VNg	-	-	-	-
12R	VNC	-	-	-	-	35L	VNM	-	-	726,09	216,15
13R	VN	42,16	-	-	-	36R	VNC	-	-	-	-
14R	Bột	-	-	-	-	37L	VNM	-	-	1610,44	437,34
15R	VNg	-	-	-	-	38L	VNM	-	-	431,27	48,58
16R	VNg	-	-	-	-	39L	VNM	-	-	-	-
17R	VNg	-	-	-	-	40R	Bột	-	-	-	-
19R	VNC	-	-	-	-	41R	VNC	-	-	906,55	424,58
20L	VNM	-	-	379,26	100,64	42R	VN	1830,50	875,68	-	-
21L	VNM	-	-	-	-	43R	VNC	-	-	1017,07	255,44
22R	VN	-	-	-	-						

(-): Không phát hiện, DDU: Dung dịch uống, VNC: Viên nang cứng, VNM: Viên nang mềm, VN: Viên nén, VNg: Viên ngậm

Đối với các paraben, Thông tư này không quy định mức sử dụng tối đa cho nhóm thực phẩm này. Mặc dù chưa có quy định chuyên biệt đối với TPBVSK, việc đối chiếu với giới hạn áp dụng cho nhóm thực phẩm số 13 cho thấy hai mẫu có hàm lượng BA vượt quá mức tối đa quy định đối với nhóm thực phẩm thông thường. Kết quả này cho thấy cần có sự quan tâm hơn đến việc giám sát sử dụng chất bảo quản trong TPBVSK, đồng thời cho thấy phương pháp được phát triển có khả năng ứng dụng hiệu quả trong kiểm soát chất lượng và hỗ trợ công tác quản lý an toàn thực phẩm.

3.4.2. Ước tính liều phơi nhiễm

Để đánh giá nguy cơ phơi nhiễm với các chất bảo quản thực phẩm từ việc sử dụng các sản phẩm TPBVSK, mức phơi nhiễm hàng ngày qua chế độ ăn uống được ước tính dựa trên liều sử dụng hàng ngày theo hướng dẫn của nhà sản xuất, hàm lượng chất bảo quản xác định được trong mẫu và trọng lượng cơ thể trung bình theo từng nhóm tuổi. Giá trị DE được biểu thị theo đơn vị mg/kg thể trọng/ngày và được so sánh với lượng ăn vào hàng ngày chấp nhận được (Acceptable Daily Intake, ADI) của từng chất bảo quản. Kết quả ước tính mức phơi nhiễm hàng ngày được trình bày trong **Bảng 9**.

Bảng 9. Kết quả ước tính liều phơi nhiễm

Kí hiệu mẫu	Liều hấp thụ DE (< 2 tuổi) (mg/kg/ngày)				Liều hấp thụ DE (2 ÷ 6 tuổi) (mg/kg/ngày)				Liều hấp thụ DE (6 ÷ 12 tuổi) (mg/kg/ngày)				Liều hấp thụ DE (> 12 tuổi) (mg/kg/ngày)			
	BA	SA	MP	PP	BA	SA	MP	PP	BA	SA	MP	PP	BA	SA	MP	PP
01L	6,417	2,620	-	-	3,850	1,572	-	-	3,300	1,347	-	-	2,100	0,857	-	-
04L	-	-	-	-	8,757	-	3,395	-	6,568	-	2,546	-	2,866	-	1,111	-
08L	-	-	-	-	-	-	0,039	0,007	-	-	0,034	0,006	-	-	0,021	0,004
11R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,033	0,006
13R	-	-	-	-	0,003	-	-	-	0,004	-	-	-	0,003	-	-	-
20L	-	-	-	-	-	-	0,027	0,007	-	-	0,015	0,004	-	-	0,019	0,005
24R	-	-	-	-	0,010	-	0,035	0,009	0,006	-	0,020	0,005	0,004	-	0,013	0,003
27L	-	-	0,811	-	-	-	0,487	-	-	-	0,417	-	-	-	0,265	-
28L	-	-	-	-	1,426	-	-	-	2,851	-	-	-	1,383	-	-	-
29L	-	1,573	-	-	-	0,944	-	-	-	0,539	-	-	-	-	-	-
31R	-	-	-	-	0,417	0,248	-	-	0,476	0,284	-	-	0,303	0,181	-	-
33R	-	-	-	-	-	-	-	-	0,071	-	-	-	0,045	-	-	-
35L	-	-	-	-	-	-	0,025	0,008	-	-	0,015	0,004	-	-	0,018	0,006
37L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,064	0,017	-	-	0,041	0,011
38L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,009	0,001	-	-	0,011	0,001
41R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,036	0,017	-	-	0,023	0,011
42R	-	-	-	-	-	-	-	-	0,063	0,030	-	-	0,030	0,007	-	-
43R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,055	0,014

(-): Không có số liệu

Tham khảo từ JECFA, giá trị ADI của BA và các muối tương ứng là 0 - 20 mg/kg thể trọng/ngày, SA và các muối tương ứng là 0 - 25 mg/kg thể trọng/ngày, tổng MP và EP là 0 - 10 mg/kg thể trọng/ngày, trong khi giá trị ADI của PP đã bị rút khỏi danh mục do các lo ngại về vấn đề an toàn [16]. Những giá trị tham khảo này cho thấy giá trị DE của các chất bảo quản được phát hiện đều thấp hơn giá trị ADI tương ứng ở tất cả các nhóm tuổi khảo sát. Điều này cho thấy, với hàm lượng chất bảo quản xác định được và khi sử dụng sản phẩm theo liều khuyến cáo của nhà sản xuất, các sản phẩm TPBVSK được khảo sát chưa ghi nhận nguy cơ vượt quá mức phơi nhiễm chấp nhận được đối với các chất bảo quản đã được thiết lập ADI.

Tại Việt Nam hiện còn áp dụng QCVN 4-12:2010/BYT - Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về phụ gia thực phẩm - chất bảo quản [1]. Theo quy chuẩn này, ADI của BA và các muối tương ứng là 0 - 5 mg/kg thể trọng, các chất khác tương tự như JECFA. Như vậy, theo quy định hiện hành của Việt Nam, có hai sản phẩm chứa hàm lượng chất bảo quản BA trong sản phẩm khá cao và khi liều dùng lớn dẫn đến có nguy cơ lượng hấp thu chất bảo quản này trong ngày vượt ngưỡng ADI trong trường hợp dùng cho trẻ em. Một điểm đáng lưu ý ở đây, giá trị DE được ước tính chỉ với sản phẩm TPBVSK, trong ngày con người còn sử dụng nhiều sản phẩm khác có thể chứa các chất bảo quản này. Do đó, nguy cơ phơi nhiễm ở mức tiêu thụ cao cần được tính đến và có khuyến cáo phù hợp cho người sử dụng.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phát triển và thẩm định thành công phương pháp HPLC-PDA để xác định đồng thời chín chất bảo quản gồm BA, SA, MP, EP, PP, iPP, PheP, iBP và BP trong TPBVSK. Quy trình xử lý mẫu đơn giản, dễ thực hiện và phù hợp cho phân tích thường quy. Kết quả thẩm định theo hướng dẫn ICH Q2(R2), cho thấy phương pháp đáp ứng các yêu cầu về tính phù hợp hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, LOD, LOQ, độ đúng, độ chụm và độ vững. Phương pháp cũng đã được áp dụng thành công để phân tích các mẫu TPBVSK lưu hành trên thị trường ở Tây Ninh, cung cấp dữ liệu về hiện trạng sử dụng các chất bảo quản và hỗ trợ công tác kiểm soát chất lượng. Mặc dù số lượng mẫu nghiên cứu còn hạn chế (41 mẫu), kết quả ước tính ban đầu cho thấy mức phơi nhiễm các chất bảo quản từ TPBVSK chưa vượt giá trị ADI theo JECFA. Tuy nhiên, khi áp dụng giá trị ADI hiện hành theo QCVN 4-12:2010/BYT của Việt Nam, mức phơi nhiễm của một số sản phẩm đã vượt ngưỡng, đặc biệt ở nhóm trẻ em. Do đó, cần thận trọng khi đánh giá phơi nhiễm và có khuyến cáo sử dụng phù hợp đối với các sản phẩm có hàm lượng chất bảo quản cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Vietnam Ministry of Health, "National technical regulation on food additives - Preservatives (QCVN 4-12:2010/BYT)," 2010 (in Vietnamese).
- [2]. Vietnam Ministry of Health, "Circular No. 24/2019/TT-BYT: Guiding the management and use of food additives," August 30, 2019 (in Vietnamese).
- [3]. N. Kumar, A. Singh, D. Sharma, and K. Kishore, "Toxicity of food additives," in *Food Safety and Human Health*, Academic Press, 2019, pp. 67 - 98.
- [4]. A. Janiga-MacNelly, M. McGraw, M. T. Fernandez-Luna, and R. Lavado, "Assessment of the toxic effects of parabens, commonly used preservatives in cosmetics, and their halogenated by-products on human skin and endothelial cells," *NAM Journal*, vol. 1, p. 100011, 2025.
- [5]. H. Zhu *et al.*, "Paraben preservatives exhibit inhibition on human and rat steroid 5 α -reductase 1: A comprehensive 3D-QSAR and computational analysis," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 480, 135841, 2024.
- [6]. European Commission, "Commission Regulation (EU) No 1004/2014 of 18 September 2014 amending Annex V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on cosmetic products," 2014.
- [7]. A. M. P. L. V. O. Ferreira, E. Mendes, P. Brito, and M. A. Ferreira, "Simultaneous determination of benzoic and sorbic acids in quince jam by HPLC," *Food Research International*, vol. 33, no. 2, pp. 113 - 117, 2000.
- [8]. U. Alshana, N. Ertaş, and N. G. Göğçer, "Determination of parabens in human milk and other food samples by capillary electrophoresis after dispersive liquid-liquid microextraction with back-extraction," *Food Chemistry*, vol. 181, pp. 1 - 8, 2015.
- [9]. J. S. So, S. B. Lee, J. H. Lee, H. S. Nam, and J. K. Lee, "Simultaneous determination of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and ethylparaben in foods by high-performance liquid chromatography," *Food Science and Biotechnology*, vol. 32, no. 9, pp. 1173 - 1183, 2023.

- [10]. M. Faraji and F. Rahbarzare, "Simultaneous determination of four preservatives in foodstuffs by high-performance liquid chromatography," *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 3, no. 2, pp. 43 - 50, 2016.
- [11]. Nguyen Thi Thuan, Do Thi Mai Dung, Chu Le Trang, and Chu Thi Trang, "Investigation of residues of six preservatives used for preservation of some fresh and dried fruits in Vietnam," *Vietnam Journal of Nutrition and Food*, vol. 21, no. 1, pp. 34 - 42, 2025 (in Vietnamese).
- [12]. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH), "ICH Harmonised Guideline: Validation of Analytical Procedures Q2(R2)," 2023.
- [13]. AOAC International, "Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements," 2016.
- [14]. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, "Dietary exposure assessment of chemicals in food," 2005.
- [15]. World Health Organization, "Weight-for-age," 2026. [Online]. Available: <https://www.who.int/tools/child-growth-standards/standards/weight-for-age>. [Accessed March 18, 2026].
- [16]. World Health Organization and Food and Agriculture Organization of the United Nations, "Safety Evaluation of Certain Food Additives: Prepared by the Ninety-Second Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA)," 2022.