

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC HUẾ
HUE UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY

TẠP CHÍ
Y DƯỢC HỌC

JOURNAL OF MEDICINE AND PHARMACY

Huế, 2-2019

MỤC LỤC

Tập 9, Số 1/2019

Vol 9, No.1/2019

| | | |
|----|---|--------|
| 1. | Nghiên cứu mối liên quan giữa đa hình C677T của gene MTHFR với sẩy thai liên tiếp ở phụ nữ Việt Nam Association of C677T polymorphisms of MTHFR gene with recurrent pregnancy loss vietnamese woman <i>Lê Thanh Nhã Uyên, Hà Thị Minh Thị, Nguyễn Viết Nhân</i> | 7-12 |
| 2. | Xây dựng phương pháp và khảo sát hàm lượng acid propionic trong một số thực phẩm ở thành phố Huế Method development and determination of propionic acid in foods in Hue city <i>Nguyễn Viết Khắc, Nguyễn Thị Hoài</i> | 13-18 |
| 3. | Đánh giá hiệu quả của dẫn lưu tắc nghẽn trong viêm thận bể thận cấp tính tắc nghẽn do sỏi niệu quản Effectiveness of drainage for acute obstructive pyelonephritis secondary to ureteric calculi <i>Lê Đình Đạm, Nguyễn Xuân Mỹ, Nguyễn Trường An, Nguyễn Khoa Hùng, Lê Đình Khánh</i> | 19-25 |
| 4. | Nghiên cứu đặc điểm cộng sinh của <i>trichomonas vaginalis</i> và <i>mycoplasma hominis</i> bằng phương pháp sinh học phân tử trên phụ nữ độ tuổi sinh sản ở tỉnh Thừa Thiên Huế The symbiotic characteristics of <i>trichomonas vaginalis</i> and <i>mycoplasma hominis</i> by molecular techniques on women at Hue province <i>Hà Thị Ngọc Thúy, Tôn Nữ Phương Anh, Ngô Thị Minh Châu, Lê Chí Cao</i> | 26- 29 |
| 5. | Chất lượng giấc ngủ và các yếu tố liên quan theo y học cổ truyền ở bệnh nhân đau thần kinh tọa Sleep quality and related factors according to traditional medicine in sciatica patients <i>Nguyễn Quang Tâm, Đoàn Văn Minh</i> | 30-34 |
| 6. | Giá trị phối hợp thang điểm AIMS65 và chỉ số MELD trong tiên lượng sớm ở bệnh nhân xơ gan xuất huyết do vỡ giãn tĩnh mạch thực quản Prognostic value of combination AIMS65 and MELD scores in cirrhotic patients with acute variceal bleeding <i>Nguyễn Thị Nhung, Phan Trung Nam, Trần Văn Huy</i> | 35-40 |
| 7. | Phẫu thuật cắt mạc treo trực tràng nội soi qua đường hậu môn trong điều trị ung thư trực tràng Transanal total mesorectal excision of rectal cancer treatment <i>Trần Viết Hùng, Phạm Anh Vũ, Phạm Như Hiệp, Hồ Hữu Thiện, Phan Hải Thanh, Phạm Xuân Đông</i> | 41-45 |
| 8. | Khảo sát một số thay đổi chất lượng tình dục ở phụ nữ viêm nhiễm đường sinh dục dưới đến khám tại Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Huế Evaluating the changes in sexual quality of women with lower genital tract infection at Hue University of Medicine and Pharmacy Hospital <i>Nguyễn Thị Mỹ Thơm, Võ Hoàng Lâm, Nguyễn Tiến Nhật, Lê Lam Hương</i> | 46-51 |

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP VÀ KHẢO SÁT HÀM LƯỢNG ACID PROPIONIC TRONG MỘT SỐ THỰC PHẨM Ở THÀNH PHỐ HUẾ

Nguyễn Việt Khấn, Nguyễn Thị Hoài
Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Hiện nay, acid propionic (PRO) đang ngày càng được sử dụng rộng rãi là chất bảo quản thực phẩm. Tuy nhiên, hóa chất này sử dụng quá mức sẽ gây hại đến sức khỏe người tiêu dùng. **Mục tiêu:** (1) Xây dựng phương pháp định lượng PRO trong thực phẩm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) và (2) Khảo sát hàm lượng PRO trong một số thực phẩm ở thành phố Huế. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đối tượng nghiên cứu là các loại bánh, bún, phở trên địa bàn thành phố Huế. Sau khi xây dựng được quy trình, phương pháp được thẩm định và ứng dụng để khảo sát hàm lượng PRO trong các đối tượng trên. **Kết quả:** Phương pháp có độ phù hợp, tính chọn lọc, độ tuyến tính, độ chính xác và độ đúng cao. **Kết luận:** Phương pháp HPLC đã xây dựng có thể ứng dụng để định lượng PRO trong một số mẫu thực phẩm. Hàm lượng PRO sử dụng như chất bảo quản trong một số thực phẩm khảo sát trên địa bàn thành phố Huế đều dưới mức cho phép của Bộ Y tế.

Từ khóa: acid propionic, mẫu thực phẩm, HPLC, hàm lượng, tạo dẫn xuất.

Abstract

METHOD DEVELOPMENT AND DETERMINATION OF PROPIONIC ACID IN FOODS IN HUE CITY

Nguyen Viet Khan, Nguyen Thi Hoai

Faculty of Pharmacy, Hue University of Medicine and Pharmacy, Hue University

Background: Propionic acid (PRO) is increasingly being used as a food preservative on markets, today. However, excessive use of this chemical will harm the health of consumers. **Objectives:** (1) To develop an HPLC method for quantification of PRO in foods and (2) To determinate PRO content in some foods in Hue city. **Materials and methods:** Breads, cakes, noodles in Hue city. After attaining the optimal process, the method was validated and applied to assess the content of PRO in these materials. **Results:** The method was validated parameters including: system suitability, specificity, linearity, precision and accuracy. **Conclusions:** The method development can be applied to determine PRO in some foods. PRO contents (using as a preservative) in all foods surveyed in Hue city were under the permitted level of PRO in foods according to Ministry of Health (Vietnam).

Keywords: propionic acid, food samples, HPLC, content, derivatization.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

PRO đang ngày càng được sử dụng rộng rãi dưới dạng chất bảo quản thực phẩm vì có khả năng ngăn cản sự phát triển của nấm mốc, kìm hãm một số vi sinh vật và kéo dài thời gian sử dụng của thực phẩm [1]. Hiện nay, vì lợi ích kinh tế, một số nhà sản xuất, chế biến thực phẩm đã lạm dụng hóa chất bảo quản này. Điều đáng quan ngại, nếu cơ thể người sử dụng acid này trong một thời gian đáng kể có thể bị loét thực quản và dạ dày, độc tính mãn đối với hệ tiêu hóa và hệ hô hấp [2, 3].

Vì vậy, theo quy định 3742/2001/QĐ-BYT, giới hạn tối đa cho phép sử dụng PRO trong bánh nướng

là 2000 mg/kg, trong sản phẩm phomat chế biến là 3000 mg/kg [4].

Các phương pháp thường được sử dụng để phân tích PRO là HPLC, sắc ký trao đổi ion, sắc ký khí hay điện di mao quản [5-7]. Nhìn chung, các phương pháp này cần trải qua quá trình xử lý mẫu phức tạp, đặc biệt khó áp dụng phân tích cho nhiều loại mẫu thực phẩm do độ chọn lọc không cao.

Trong bài báo này, chúng tôi giới thiệu kết quả nghiên cứu xây dựng và thẩm định phương pháp bằng HPLC tạo dẫn xuất màu, đồng thời ứng dụng để khảo sát hàm lượng của PRO trong một số thực phẩm ở thành phố Huế.

Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Việt Khấn, email: nviethan@gmail.com

Ngày nhận bài: 25/12/2018, Ngày đồng ý đăng: 16/1/2019; Ngày xuất bản: 4/3/2019

2. NGUYÊN VẬT LIỆU, THIẾT BỊ VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất - dung môi

- Chất chuẩn: PRO (hàm lượng 99,0%) của Merck, Đức.

- Chất nội chuẩn: 2-ethylbutyric acid (IS) (hàm lượng 98%) của Merck, Đức.

- Các hóa chất tạo dẫn xuất: Pyridin (Merck, Đức), N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid hydrochlorid (1-EDC-HCl)(HiMedia, Ấn Độ), 2-Nitrophenyl-hydrazin (2-NPH-HCl) (Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Nhật Bản), NaOH (Sigma-Aldrich, Mỹ), H₃PO₄ (Merck, Đức), Diethyl ether (Merck, Đức).

- Methanol (MeOH), acetonitril (ACN), acid trifluoroacetic 100% (TFA 100%) tinh khiết HPLC đều của Merck, Đức, nước cất 2 lần tinh khiết HPLC.

2.2. Mẫu trắng và mẫu thử

- Mẫu trắng: mẫu bánh không chứa PRO (được đặt hàng tại cơ sở sản xuất).

- Mẫu thử: các loại bánh mì, bánh ngọt, bánh trắng, bánh gạo, mè xừng, bún, phở trên địa bàn thành phố Huế.

2.3. Thiết bị

Hệ thống HPLC – detector PDA Shimadzu 20AD, Nhật; máy ly tâm Z326K Hermle Labortechnik GmbH, Đức; máy lắc xoay Vortex mixer 250VM HSi, Hàn Quốc; cân phân tích Mettler Toledo, Thụy Sĩ (d=0,1mg); máy đo pH sens ION™ PH3 HACH, Tây Ban Nha; máy khuấy từ RET-Basic; micropipet Labnet, Mỹ; các bình định mức, pipet thủy tinh chính xác.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Chuẩn bị các dung dịch

- Từ PRO (d = 0,9930 g/ml, hàm lượng 99,0%), pha dung dịch chuẩn gốc PRO 14,8160 g/ml với dung môi MeOH:nước cất = 1:1.

- Pha dung dịch nội chuẩn IS có nồng độ gốc 23,2325 g/ml và 92,93 µg/ml (tạo dẫn xuất) được dùng làm nội chuẩn cho tất cả các mẫu phân tích.

- Các dung dịch thuốc thử tạo dẫn xuất: dung dịch pyridin 3% - dung môi MeOH, dung dịch 1-EDC-HCl 250 mmol/L - dung môi MeOH, dung dịch 2-NPH-HCl 20 mmol/L - dung môi MeOH, dung dịch NaOH 15,0% trong nước cất, pha loãng dung dịch NaOH 15% bằng MeOH theo tỉ lệ thể tích NaOH/MeOH = 80/20, dung dịch H₃PO₄ 0,5 M trong nước cất.

Xử lý mẫu

Mẫu phân tích được sấy ở 60°C đến khối lượng không đổi. Sau đó, mẫu được nghiền mịn và đồng nhất. Cân chính xác khoảng 1,0000 g mẫu cho vào trong ống falcon 15ml, thêm 5,0 ml dung dịch ACN: nước cất = 1 : 1; siêu âm hỗn hợp trong 10 phút rồi

ly tâm với tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút (lặp lại 2,0 lần), thu và gộp lấy dịch lọc [8].

Tạo dẫn xuất hydrazide

Lấy 1000 µl mẫu, thêm 150 µl chất nội chuẩn IS 92,93 µg/ml và 600 µl EDC 250 mmol/L, 600 µl pyridin 3%, 600 µl 2-NPH-HCl 20 mmol/L ở 30°C, dung dịch có màu vàng. Sau 20 phút, thêm 400 µl dung dịch NaOH ở 30°C, dung dịch chuyển sang màu tím. Sau 20 phút, tiếp tục thêm 6,0 ml dung dịch H₃PO₄, dung dịch chuyển sang màu vàng nhạt.

Sau đó, cho 8,0 ml diethylether vào dung dịch trên, tiến hành lắc chiết và ly tâm ở 20°C, 5000 vòng/phút trong 5 phút. Thu lớp ether (ở trên), lắc rửa bằng nước cất và ly tâm ở cùng điều kiện như trên, loại bỏ dịch nước, rồi cô mẫu thành cặn bằng máy cô mẫu chân không.

Cuối cùng, hòa tan cặn bằng 600 µl MeOH, dịch được lọc qua màng lọc mẫu 0,45µm và tiêm vào hệ thống sắc ký với thể tích tiêm 20 µl [9,10].

Điều kiện sắc ký

- Cột Agilent Eclipse XDB-C8 (150 x 4,6mm, 5µm).

- Pha động gồm MeOH - ACN - đệm TFA pH = 4,5 với gradient thay đổi theo thời gian: 0:12:88 (0 - 10 phút) – 10:20:70 (10,01 - 30 phút) – 0:12:88 (30,01 - 40 phút).

- Tốc độ dòng: 1,4 ml/phút.

- Nhiệt độ cột: 40°C

- Thể tích tiêm mẫu: 20 µl.

- Detector PDA 396 nm.

Khảo sát bước sóng phát hiện

Trích xuất phổ UV-Vis (200 – 600 nm) của các dẫn xuất PRO và nội chuẩn từ kết quả sắc ký HPLC để chọn bước sóng cực đại phù hợp cho phép định lượng.

Phương pháp đánh giá: theo hướng dẫn của Asean về thẩm định quy trình phân tích [11].

Các số liệu thống kê được tính toán dựa vào phần mềm Microsoft Excel 2010.

3. KẾT QUẢ

3.1. Khảo sát và lựa chọn điều kiện sắc ký

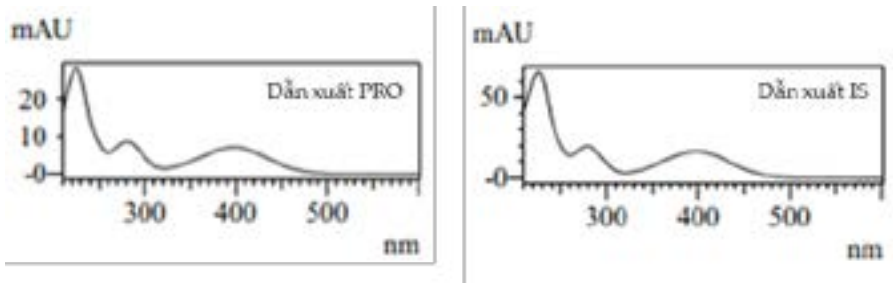
- Qua khảo sát các hệ cột C18 và C8, cột Agilent Eclipse XDB-C8 (150 x 4,6mm, 5µm) được lựa chọn trong nghiên cứu này.

- Sau các thực nghiệm bằng nhiều hệ dung môi pha động với các tỷ lệ khác nhau, hệ pha động tối ưu nhất gồm MeOH - ACN - đệm TFA pH = 4,5 với gradient thay đổi theo thời gian: 0:12:88 (0 - 10 phút) – 10:20:70 (10.01 - 30 phút) – 0:12:88 (30.01 - 40 phút) cho pic các dẫn xuất của hoạt chất sắc đẹp, cân đối.

- Từ phổ đồ UV-Vis trong vùng bước sóng 200 – 600 nm (hình 1) của các dẫn xuất PRO và nội chuẩn, tất cả đều có 3 bước sóng cực đại tại: 215 nm, 283 nm và 396 nm.

Do trong các mẫu phân tích chứa nhiều chất có khả năng hấp thụ mạnh trong vùng bước sóng ngắn,

để loại trừ ảnh hưởng này, bước sóng 396 nm được lựa chọn cho các phép phân tích.



Hình 1. Phổ đồ UV-Vis của dẫn xuất PRO và nội chuẩn

3.2. Thăm định phương pháp

Độ phù hợp của hệ thống sắc ký

Tiến hành tiêm lặp lại 6 lần dung dịch sau khi tạo dẫn xuất từ chất chuẩn PRO 237,06 µg/ml và nội chuẩn IS 92,93 µg/ml; dựa trên các thông số thời gian lưu, tỷ số diện tích pic, số đĩa lý thuyết để đánh giá tính tương thích hệ thống. Kết quả khảo sát tính thích hợp của hệ thống sắc ký được trình bày tại bảng 1.

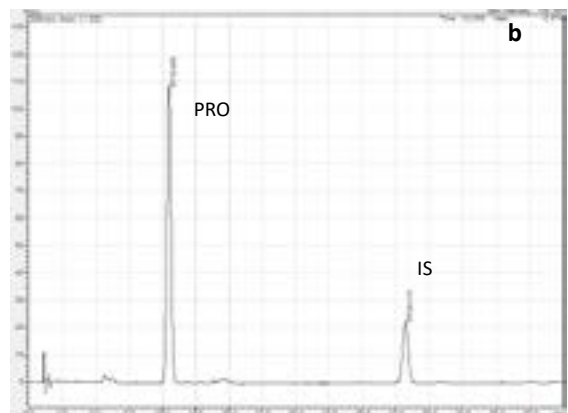
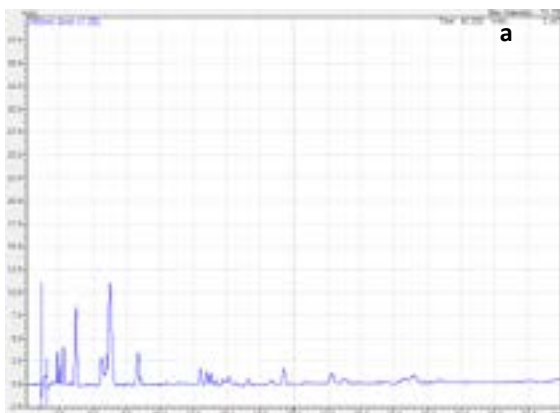
Bảng 1. Khảo sát tính thích hợp hệ thống sắc ký

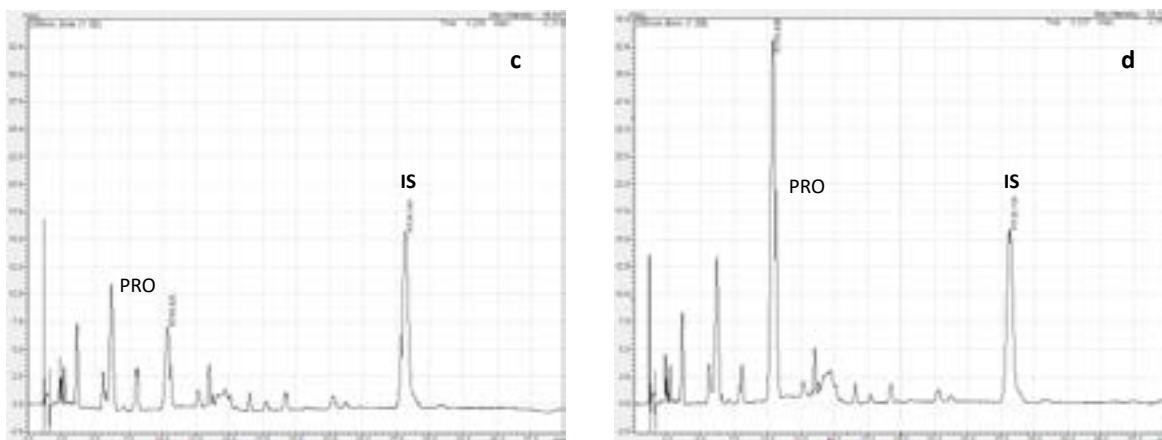
| Dẫn xuất phân tích | Thông số sắc ký | | | | | |
|--------------------|-----------------|------|-------|------|--------------|------|
| | t_R (phút) | | N | | Độ phân giải | |
| | TB | RSD% | TB | RSD% | TB | RSD% |
| PRO | 10,49 | 0,17 | 5167 | 1,93 | 4,48 | 0,11 |
| IS | 28,17 | 0,13 | 23167 | 1,38 | 3,31 | 0,32 |

Từ bảng 1 cho thấy, kết quả có độ lặp lại cao trên các lần phân tích khác nhau với hệ số RSD < 2%, hệ thống sắc ký chọn lựa là tương thích cho việc phân tích định lượng PRO trong mẫu thực phẩm.

Tính chọn lọc

Tiến hành sắc ký các mẫu: mẫu trắng (mẫu bánh không chứa PRO), mẫu chuẩn PRO + IS trong dung môi hữu cơ, mẫu trắng + chuẩn PRO + IS, và mẫu trắng + thêm chuẩn PRO + IS. Sắc ký đồ của các mẫu được trình bày ở hình 2.





Hình 2. Sắc ký đồ các mẫu: **a.** mẫu trắng (mẫu bánh không chứa PRO), **b.** mẫu chuẩn PRO + IS trong dung môi hữu cơ, **c.** mẫu trắng + chuẩn PRO + IS, **d.** mẫu trắng + thêm chuẩn PRO + IS.

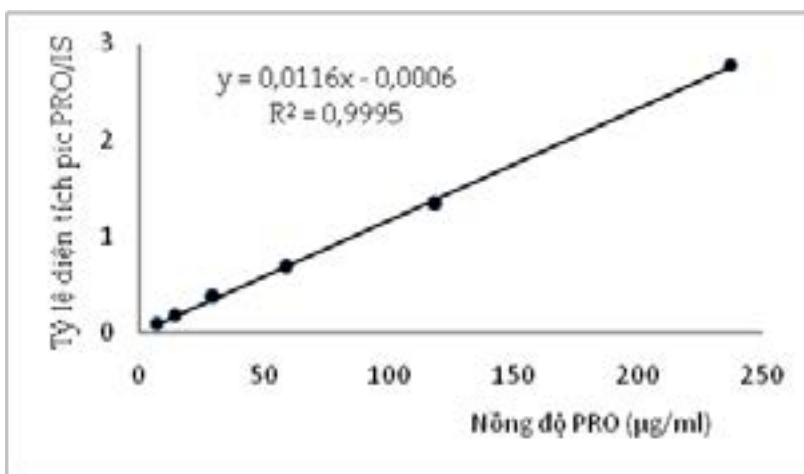
Hình 2 cho thấy, trên sắc ký đồ mẫu trắng tại vị trí tương ứng thời gian lưu của PRO và IS (10,495 và 28,173 phút) không có pic. Ngoài ra, tiến hành thêm chất chuẩn, xuất hiện pic PRO ở sắc ký đồ (d) cao hơn so với ở sắc ký đồ (c) với cùng thời gian lưu; kiểm tra phổ UV bằng detector PDA mẫu thêm chuẩn và đánh giá độ tinh khiết pic với giá trị purity index của PRO là 1,000 và giá trị purity index của IS là 0,999 cho thấy pic có độ tinh khiết cao. Do vậy, phương pháp có tính chọn lọc.

Khoảng nồng độ tuyến tính

Từ dung dịch chuẩn gốc PRO pha loãng bằng MeOH 50% (tt/tt) thành các dung dịch chuẩn thứ cấp có nồng độ chính xác 237,06 – 7,41 µg/ml; trong đó nồng độ IS giữ nguyên 92,93 µg/ml. Xử lý mẫu và tiến hành sắc ký theo điều kiện đã xác định. Kết quả được trình bày ở bảng 2 và hình 3.

Bảng 2. Kết quả khảo sát khoảng nồng độ tuyến tính

| | | | | | | |
|----------------------------|--------|--------|-------|-------|-------|-------|
| Nồng độ (µg/ml) | 237,06 | 118,53 | 59,26 | 29,63 | 14,82 | 7,41 |
| Tỷ số diện tích pic PRO/IS | 2,776 | 1,340 | 0,683 | 0,371 | 0,168 | 0,090 |



Hình 3. Đồ thị biểu diễn mối tương quan giữa nồng độ và tỷ số diện tích pic của PRO/IS

Kết quả cho thấy, trong khoảng nồng độ khảo sát của PRO có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ với tỷ lệ diện tích pic chuẩn và chuẩn nội (với $R^2 > 0,995$).

Độ chính xác

Các mẫu bánh được phân tích trong nghiên cứu này không chứa PRO. Do đó, để đánh giá độ chính xác của phương pháp, mẫu bánh được thêm PRO, sau đó tiến hành xử lý mẫu và sắc ký 6 mẫu giống nhau trong cùng điều kiện. Kết quả được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ chính xác của phương pháp

| STT | Khối lượng mẫu (g) | Tỷ số | Nồng độ (µg/ml) | Hàm lượng (mg/g) |
|------------|--------------------|--------------|-----------------|------------------|
| 1 | 1,004 | 0,291 | 25,11 | 0,150 |
| 2 | 1,082 | 0,301 | 25,98 | 0,144 |
| 3 | 0,9894 | 0,284 | 24,53 | 0,149 |
| 4 | 1,0735 | 0,301 | 26,02 | 0,145 |
| 5 | 1,1007 | 0,309 | 26,72 | 0,146 |
| 6 | 1,0714 | 0,305 | 26,35 | 0,148 |
| Trung bình | | 0,147 | | |
| RSD (%) | | 1,61 | | |

Kết quả ở bảng 3 cho thấy phương pháp có độ lặp lại cao với RSD (1,61) nhỏ hơn 2,0%.

Độ đúng

Độ đúng được xác định bằng phương pháp thêm chuẩn tương ứng 10%, 20% và 30% lượng acid có trong 1,0 g mẫu thử (từ mẫu phân tích xác định độ chính xác). Mỗi nồng độ làm 3 mẫu.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp (n = 3)

| | | | |
|------------------------------|---------|---------|---------|
| Lượng thêm chuẩn vào ban đầu | 14,7 µg | 29,4 µg | 44,1 µg |
| Tỷ lệ thu hồi (%) | 98,13 | 99,08 | 99,54 |
| Trung bình (%) | 98,92 | | |

Kết quả cho thấy, phương pháp có độ đúng đạt yêu cầu với tỷ lệ thu hồi nằm trong khoảng cho phép là 98 – 102%.

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Giá trị LOD và LOQ được xác định bằng tỷ số tín hiệu/nhiều nền (S/N), giá trị LOD và LOQ được xác định khi S/N=3 và S/N=10 tương ứng. Kết quả cho thấy LOD và LOQ của phương pháp lần lượt là 0,12 µg/ml và 0,39 µg/ml.

3.3. Ứng dụng

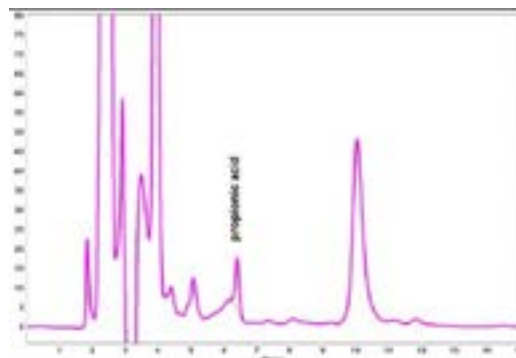
Tiến hành thu 30 mẫu các loại bánh mì (10 mẫu), bánh ngọt (07 mẫu), bánh trắng (02 mẫu), bánh gạo (02 mẫu), mè xừng (02 mẫu), bún (05 mẫu), phở (02 mẫu) trên địa bàn thành phố Huế vào tháng 10-12/2017. Xử lý mẫu theo phần 2.4 (n = 3) và tiến hành sắc ký. Kết quả phổ đồ sắc ký cho thấy, tại vùng thời gian khoảng 10,5 ± 1,0 phút (thời gian lưu của PRO chuẩn), không xuất hiện pic ở tất cả các mẫu phân tích.

4. BÀN LUẬN

Bánh mì gồm: bột mì (thành phần chính), bơ, men khô, đường, muối, dầu ăn, có thành phần tương tự với bánh ngọt, bánh trắng, bánh gạo, bún, phở,... Vì vậy, xây dựng phương pháp định lượng PRO trong bánh mì có thể áp dụng định lượng cho các thực phẩm này trên thị trường.

Việc nghiên cứu PRO trong thực phẩm ở nước ta vẫn còn hạn chế. Nghiên cứu Nguyễn Chung Thủy

(theo luận văn Thạc sỹ Dược học, 2013), định lượng PRO trong thực phẩm bằng HPLC không cần tạo dẫn xuất. Tuy nhiên, nghiên cứu cần trải qua quá trình xử lý mẫu, chiết xuất phức tạp. Trên thế giới, ngoài phương pháp sắc ký trao đổi ion, sắc ký khí hay điện di mao quản, PRO có thể được phân tích bằng HPLC. Theo nhóm nghiên cứu M.Faraji, PRO trong bánh mì được chiết tách, ly tâm, lọc mẫu, phân tích với pha động gồm: [Na₂SO₄ (8.0 mM) + H₂SO₄ (1.0 mM)] và ACN10:90 (tt/tt) tại bước sóng 210 nm [8]. Pic PRO thu được không cân xứng, độ phân giải thấp (như hình 4), có thể dẫn đến kết quả phân tích với độ đúng không cao.



Hình 4. Sắc ký đồ phân tích PRO trong bánh mì của nhóm tác giả M. Faraji.

PRO là một chất hữu cơ phân cực, sử dụng dung dịch ACN : nước cất = 1 : 1 với thời gian siêu âm 10 phút/lần đã chiết kiệt trong mẫu bánh khô. Ngoài

ra, hợp chất này là một acid béo mạch ngắn, không màu, hấp thụ bước sóng UV thấp và độ hấp thụ rất nhỏ. Với quá trình tạo dẫn xuất thành hợp chất có màu, đã làm tăng độ nhạy, LOQ, LOD, độ chính xác và độ đúng của phép phân tích.

Phương pháp HPLC được thực hiện trên cột sắc ký C8 và dung môi pha động phổ biến. Kết quả thẩm định phương pháp bao gồm tính chọn lọc, tính tương thích của hệ thống, khoảng nồng độ tuyến tính, độ chính xác và độ đúng cho thấy phương pháp này là phù hợp, tin cậy để định lượng PRO trong một số loại thực phẩm.

5. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp định lượng PRO trong một số thực phẩm đạt các tiêu chí theo hướng dẫn của Asean về thẩm định quy trình phân tích: có tính chọn lọc cao, khoảng tuyến tính phù hợp, có độ chính xác và độ đúng cao. Phương pháp này có thể ứng dụng để định lượng PRO trong một số thực phẩm. Theo kết quả của chúng tôi (2017), chưa phát hiện PRO trong một số thực phẩm bánh, bún và phở được thu thập tại thành phố Huế.

Lời cảm ơn: Kết quả nghiên cứu này được hỗ trợ từ đề tài nghiên cứu cấp Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. PGS.TS. Nguyễn Duy Thịnh (2008), *Các chất phụ gia dùng trong sản xuất thực phẩm*, NXB Đại học Bách Khoa Hà Nội, Hà Nội

2. Augenlicht LH, Mariadason JM, Wilson A, Arango D, Yang W, Heerdt BG, Velcich A. (2002), "Short chain fatty acids and colon cancer", *J. Nutr.*, 132(12), pp. 3804S-3808S

3. European Food Safety Authority (2011), "Scientific Opinion on the safety and efficacy of propionic acid, sodium propionate, calcium propionate and ammonium propionate for all animal species", *EFSA Journal* 2011, vol.9 (12), pp.2446

4. Bộ Y tế (2001), *Quyết định 3742-2001/QĐ-BYT quy định danh mục các chất phụ gia được phép sử dụng trong thực phẩm*, Hà Nội

5. S. De Baere, V. Eeckhaut, M. Steppe, C. DeMaesschalk, P. De Backer, F. Van Immerseel, S. Croubels (2013), "Development of a HPLC-UV method for the quantitative determination of four Short-Chain fatty acids and lactic acid produced by intestinal bacteria during *in-vitro* fermentation", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 80, pp. 107-115.

6. Hans M.H. van Eijk, Johanne G. Bloemen, Cornelis H.C. Dejong (2009), "Application of liquid chromatography-mass spectrometry to measure short chain fatty

acids in blood", *Journal of Chromatography B*, 877(8-9), pp.719-724

7. L. J. I. Horspool and Q. A. McKellar (1991), "Determination of Short-chain Fatty Acids in Equine Caecal Liquor by Ion Exchange High Performance Liquid Chromatography after Solid Phase Extraction", *Biomedical Chromatography*, 5, pp. 202-206.

8. Mohammad Faraji, Shadi Chiachi, Farnaz Dastmalchi (2016), "Determination of Propionates and Propionic Acid in Bread Samples Using High Performance Liquid Chromatography", *The International Journal of Engineering And Science (IJES)*, Volume 5, Issue 7, pp.07-12.

9. H. Miwa (2002), "High-performance liquid chromatographic determination of free fatty acids and esterified fatty acids in biological materials as their 2-nitrophenylhydrazides", *Anal. Chim. Acta.*, 465, pp.237-255

10. T Torii, K Kanemitsu, T Wada, S Itoh, K Kinugawa and A Hagiwara (2010), "Measurement of short-chain fatty acids in human faeces using high-performance liquid chromatography: specimen stability", *Annals of Clinical Biochemistry*, 47(5), pp. 447-452.

11. Asean (1996), Hướng dẫn của International Conference on Harmonisation, về thẩm định quy trình phân tích.