

TỐI ƯU QUY TRÌNH PHÂN TÍCH VÀ ĐÁNH GIÁ HÀM LƯỢNG CHẤT PHỤ GIA AXIT BENZOIC TRONG MỘT SỐ SẢN PHẨM THỰC PHẨM TỪ THỊT BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Nhận bài:

24 – 09 – 2016

Chấp nhận đăng:

08 – 12 – 2016

<http://jshe.ued.udn.vn/>

Lê Thị Tuyết Anh^{a*}, Phạm Thị Hà^a, Thái Thị Bảo Ngân^a, Ngô Thị Thanh Hiền^a

Tóm tắt: Bài báo trình bày quy trình phân tích hàm lượng axit benzoic trong các mẫu thực phẩm từ thịt trên máy HPLC với các điều kiện tối ưu đã xác định được như: nhiệt độ phòng; cột C₁₈; detector DAD, λ = 235nm; thể tích mẫu tiêm 10μL; tỉ lệ dung môi pha động MeOH:đệm acetat (50:50), tốc độ dòng 0.8ml/phút. Quy trình đã xây dựng đáp ứng các yêu cầu tiêu chuẩn AOAC: Khoảng tuyến tính; Phương trình đường chuẩn; Hệ số tương quan; Giới hạn định tính LOD = 0.03ppm; giới hạn định lượng LOQ = 0.05ppm; RSD_{thời gian lưu} = 0.33%; RSD_{diện tích peak} = 1.63%; Độ thu hồi H% = 90%÷96%; So sánh thử nghiệm phân tích liên phòng cho thấy phương pháp đã xây dựng chokết quả tốt. Phân tích 54 mẫu sản phẩm từ thịt trên thị trường, kết quả cho thấy các mẫu dăm bông, thịt nguội đều đạt yêu cầu về chỉ tiêu chất phụ gia axit benzoic, tuy nhiên có 13/28 mẫu (chiếm 46.43%) chả heo và chả bò không đạt do hàm lượng axit benzoic cao hơn từ 1.3 ÷ 6 lần so với tiêu chuẩn Việt Nam.

Từ khóa: chất phụ gia; axit benzoic; natri benzoat; sản phẩm thực phẩm từ thịt; HPLC.

1. Đặt vấn đề

Axit benzoic (E210) và muối natri benzoat (E211) là chất bảo quản thực phẩm được công nhận là an toàn GRAS (generally recognized as safe) với điều kiện sử dụng đúng tiêu chuẩn đã ban hành. Theo tiêu chuẩn FDA của Mỹ, hàm lượng natri benzoat trong các sản phẩm không vượt 0,1% tính theo trọng lượng. Nghiên cứu về an toàn và sức khỏe, việc sử dụng axit benzoic và muối của nó trong các sản phẩm nước giải khát có chứa axit ascorbic (vitamin C, E300) sẽ có nguy cơ tạo ra benzen, đó là một chất cực độc, có thể gây ung thư. Ngoài ra, chất phụ gia này là một trong những yếu tố góp phần gây dị ứng và mắc hội chứng ADHD - tăng tính hiếu động thái quá ở trẻ em, nếu dùng quá liều hoặc sử dụng thường xuyên. Mặt khác, sự chuyển hóa axit benzoic ở gan tạo thành axit hippuric sẽ cần sự tham gia của glycine, ảnh hưởng đến bất kỳ chức năng hoặc sự trao

đổi chất trong cơ thể có liên quan đến glycine như giảm creatinin, glutamin, urê và acid uric máu [4], [5], [6].

Tại Việt Nam, axit benzoic được Bộ Y tế (BYT) cho phép sử dụng trong thực phẩm làm chất bảo quản chống nấm men, nấm mốc [2]. Theo tiêu chuẩn hiện hành của BYT, liều lượng sử dụng trong thực phẩm là từ 50mg - 2.000mg/kg tùy từng sản phẩm; riêng đối với các sản phẩm thực phẩm từ thịt thì hàm lượng tối đa cho phép là 1000mg/kg sản phẩm. Hiện nay, tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) được áp dụng để xác định hàm lượng axit benzoic trong các sản phẩm rau quả [2], [3]. Nhìn chung, phương pháp xác định hoạt chất axit benzoic trong các nền mẫu rắn khác nhau chưa được xây dựng thành quy chuẩn và chưa được nghiên cứu rộng rãi. Bài báo này sẽ đề xuất quy trình phân tích hàm lượng axit benzoic trong các mẫu sản phẩm thực phẩm từ thịt bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất, thiết bị

Các hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu là hóa chất thuộc loại tinh khiết phân tích (hãng Meck).

Trường Đại học Sư phạm – Đại học Đà Nẵng

* Liên hệ tác giả

Lê Thị Tuyết Anh

Email: tuyetanhao@gmail.com

Axit axetic (CH_3COOH), metanol (CH_3OH), dung dịch đệm axetat 0.01M ($\text{CH}_3\text{COONH}_4/\text{CH}_3\text{COOH}$) pH 4.5. Chất chuẩn axit benzoic ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$), kali hexaxyanoferrat ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6].3\text{H}_2\text{O}$), kẽm sulfat, ($\text{ZnSO}_4.7\text{H}_2\text{O}$). Nước cất 2 lần, đủ tiêu chuẩn để sử dụng trong phân tích HPLC. Thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) Aligent 1200, có gắn detector DAD; cột C_{18} (4.6mm x 250nm x 5 μm).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- *Tối ưu các điều kiện phân tích sắc ký HPLC:*

Bước sóng hấp thụ axit benzoic: Tiến hành quét dung dịch chuẩn axit benzoic trên máy đo quang UV-VIS tại dải bước sóng từ 200nm÷400nm.

Thành phần pha động: Sử dụng hệ pha động gồm: MeOH/H₂O (đệm axetat 0.01M, pH=4.5). Tiến hành quy trình phân tích với dung dịch chuẩn trên hệ thống sắc ký để tìm thành phần pha động tối ưu cho qui trình phân tích.

Tốc độ dòng pha động: Tiến hành khảo sát tốc độ dòng tại 4 giá trị khác nhau (0.5ml/phút; 0.8ml/phút; 1ml/phút; 1.2ml/phút) với các thông số khác của hệ thống HPLC (bước sóng hấp thụ đã quét được, nhiệt độ cột, thể tích tiêm mẫu).

Khoảng tuyến tính và lập đường chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn có nồng độ 10ppm; 20ppm; 50ppm; 100ppm. Chạy sắc ký các điểm chuẩn theo điều kiện sắc ký đã được tối ưu để xác định diện tích peak của từng điểm chuẩn. Xây dựng khoảng tuyến tính của đường chuẩn.

- *Khảo sát giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ):*

Tiến hành phân tích các dung dịch chuẩn axit benzoic theo nồng độ giảm dần để xác định nồng độ nhỏ nhất C_{\min} . Một mẫu có giới hạn định tính (LOD) khi tín hiệu đo được lớn hơn hoặc bằng ba lần tín hiệu nền (3S/N) và có giới hạn định lượng (LOQ) khi tín hiệu đo được lớn hơn hoặc bằng 10 lần tín hiệu nền (10S/N). Trong đó: S là chiều cao peak ứng với nồng độ C_{\min} ; N là chiều cao của nền tại peak cần xác định.

- *Quy trình xử lý mẫu*

Tạo mẫu trắng: Cân chính xác một lượng mẫu trong khoảng 200g thịt heo vai, cắt nhỏ, để lạnh khoảng 10 phút, xay, giã tạo độ kết dính. Gói định hình nguyên liệu cho chặt bằng lá chuối và hấp chín khoảng 10 phút.

Quy trình xử lý mẫu đã tối ưu: Xay nhỏ mẫu, cân chính xác một lượng mẫu trong khoảng 5g cho vào cốc 100ml, thêm 30ml NaOH 0.1M, khuấy trong khoảng 10 phút, đun cách thủy mẫu ở 70°C trong 30 phút. Tiếp

theo, để nguội, chỉnh pH đến khoảng 8,5 bằng dung dịch H_2SO_4 10%, thêm 2ml $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 15% và 2ml ZnSO_4 30% để loại tạp chất, thêm 10ml $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, siêu âm mẫu trong thời gian 45phút và định mức bằng dung dịch đệm đến 50 ml. Mẫu được li tâm để loại bỏ phần bã rắn, thu phần dịch trong. Tiến hành lọc mẫu dịch trong qua phin lọc 0.2 μm , cho vào vial và phân tích mẫu trên máy HPLC.

- *Khảo sát hiệu suất thu hồi của quy trình:*

Chuẩn bị các mẫu thử được thêm chất bảo quản axit benzoic với các hàm lượng chính xác. Sau đó, tiếp tục xử lý mẫu như quy trình đã nghiên cứu và phân tích trên HPLC. Từ kết quả thu được, tính hiệu suất thu hồi theo công thức sau: $H\% = (C_1 - C_2) / C_3 * 100$. Với C_1 là hàm lượng axit benzoic có trong mẫu sau khi thêm; C_2 là hàm lượng axit benzoic có trong mẫu trắng; C_3 là hàm lượng chất chuẩn cho vào mẫu trắng.

- *Phân tích hàm lượng axit benzoic trong một số mẫu thực phẩm làm từ thịt trên thị trường:*

Lấy mẫu: Mẫu thực phẩm được lấy ngẫu nhiên trên thị trường thành phố Đà Nẵng. Mỗi mẫu lấy khoảng 100g cho vào túi polyethylene khô, sạch, đóng kín, điền thông tin và chuyển về phòng thí nghiệm phân tích. Sau đó, mẫu được đồng nhất đến khi nhỏ mịn, đồng đều, bảo quản trong túi kín ở nhiệt độ khoảng 3°C÷5°C.

Tiến hành xử lý mẫu và phân tích mẫu theo quy trình đã tối ưu. So sánh kết quả phân tích hàm lượng axit benzoic trong một số mẫu thực phẩm từ thịt trên thị trường với TCVN.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Chọn lựa điều kiện sắc ký

- *Khảo sát bước sóng hấp thụ*

Tiến hành quét mẫu chuẩn axit benzoic tại khoảng bước sóng từ 200nm÷400nm, chúng tôi thu nhận được giá trị bước sóng cực đại $\lambda_{\max} = 235\text{nm}$.

- *Khảo sát thành phần pha động*

Khảo sát thành phần pha động thu nhận sắc ký đồ như Hình 1.

Khi tỉ lệ MeOH: đệm acetat = 70:30; thời gian lưu là 2,392 phút (1); tỉ lệ MeOH: đệm acetat = 60:40; thời gian lưu là 2,788 phút (2); tỉ lệ MeOH: đệm acetat = 50:50; thời gian lưu là 3,604 phút (3); tỉ lệ MeOH: đệm acetat = 40:60; thời gian lưu là 5,029 phút (4); tỉ lệ

MeOH: đệm acetat = 30:70; thời gian lưu là 7.631 phút (5). Kết quả nghiên cứu cho thấy, tỉ lệ MeOH trong hỗn hợp pha động càng nhỏ, độ phân cực của pha động càng tăng làm khả năng rửa giải các chất trong cột kém, axit benzoic bị giữ lại trong cột lâu hơn, hình dạng peak không sắc nhọn. Khi tỉ lệ MeOH trong hỗn hợp pha động tăng làm cho peak xuất hiện sớm và hình dạng peak cân đối hơn. Do vậy, dựa vào sắc ký đồ và thời

gian lưu, chúng tôi lựa chọn tỉ lệ pha động MeOH: đệm acetat = 50:50, ứng với thời gian lưu là 3,604 phút để phân tích. Kết quả khảo sát thời gian lưu, chiều cao, diện tích peak (S_{peak}) khi thay đổi thành phần pha động được thể hiện trên Bảng 1.

- Khảo sát tốc độ dòng pha động

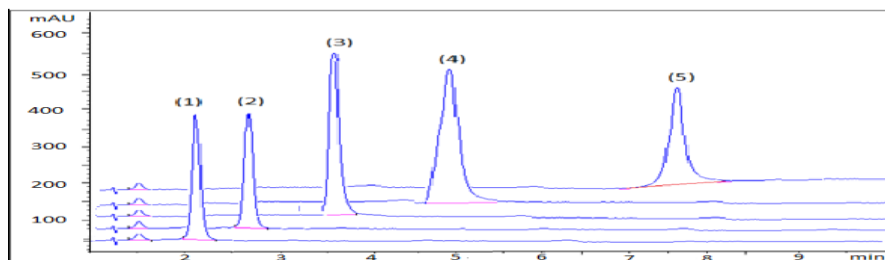
Kết quả khảo sát tốc độ dòng của pha động trong quá trình chạy sắc ký được thể hiện trên Hình 2.

Bảng 1. Kết quả khảo sát t_R , H , S_{peak} khi thay đổi thành phần pha động

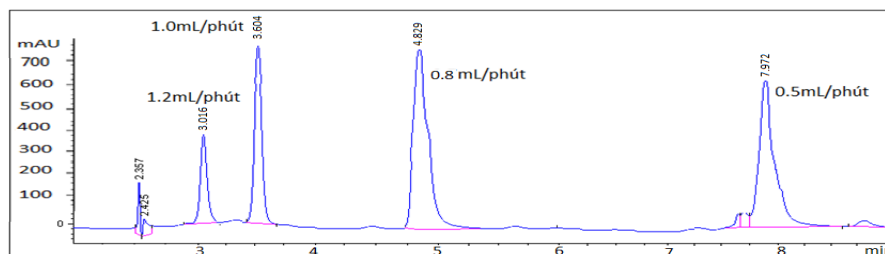
Thành phần (MeOH: Đệm)	Thời gian lưu (phút)	Diện tích	Tín hiệu đo (mAU)
70/30	2.390	3371.1	587.1
60/40	2.788	3627.9	645.1
50/50	3.604	4317.0	586.9
40/60	5.029	3273.5	404.7
30/70	7.631	3382.6	244.2

Bảng 2. Kết quả khảo sát thời gian lưu, chiều cao, S_{peak} khi thay đổi tốc độ dòng

Tốc độ dòng, mL/phút	Thời gian lưu, phút	Bề rộng đáy, Δt phút	S_{peak}	Áp suất cột, bar
0.5	7.972	0.45	6805.6	78
0.8	4.829	0.22	4484.9	128
1.0	3.604	0.22	4317.0	156
1.2	3.016	0.20	2934.7	191



Hình 1. Sắc ký đồ tương ứng với các điều kiện khác nhau về thành phần pha động



Hình 2. Ảnh hưởng của tốc độ dòng đến thời gian lưu của chất phân tích

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khi tốc độ dòng pha động nhỏ, thời gian lưu của chất phân tích tăng, hình dạng peak không sắc nhọn, bề rộng đáy lớn. Khi tốc độ dòng tăng lên, thời gian lưu mẫu phân tích trên pha tĩnh giảm. Tuy nhiên, nếu tốc độ dòng quá lớn có thể gây ra

hiện tượng nhiễm tạp chất ở nền mẫu và làm tăng áp suất cột nên dễ gây hỏng cột. Ngược lại, khi vận tốc pha động càng nhỏ, ái lực giữa chất phân tích và pha tĩnh càng lớn nên chất phân tích bị lưu giữ trên cột lâu hơn, tốn nhiều thời gian phân tích mẫu. Theo kết quả phân

tích trên sắc ký đồ, chúng tôi chọn tốc độ dòng thích hợp là 0.8ml/phút (áp suất cột 128bar), tương ứng với thời gian lưu 4,829 phút.

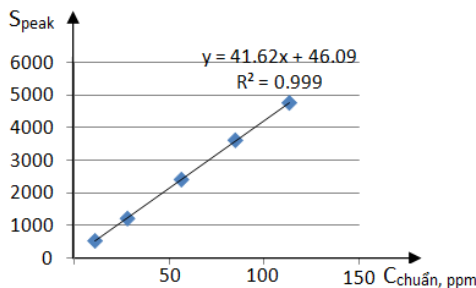
3.2. Độ tương thích của hệ thống sắc ký

Tiêm lặp lại 5 lần dung dịch chuẩn axit benzoic trên máy HPLC Aligent 1200. Kết quả thu được trên Bảng 3 cho thấy peak có độ cân xứng, số đĩa lý thuyết, các giá trị RSD đều đáp ứng yêu cầu. Đối với phương pháp HPLC, RSD của thời gian lưu < 1% và của diện tích peak < 2% là chấp nhận được.

Bảng 3. Độ tương thích của hệ thống sắc ký

TT	Thông số	Kết quả
1	Thời gian lưu t_R (phút)	4.871
2	RSD của thời gian lưu (%)	0.33
4	RSD của diện tích Peak (%)	1.63
5	Số đĩa lý thuyết	9064
6	Hệ số đối xứng của peak (T)	1.68

3.3. Khảo sát khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn



Hình 3. Đồ thị biểu diễn đường chuẩn axit benzoic

Khảo sát trên các dung dịch chuẩn axit benzoic với các nồng độ khác nhau từ 10ppm÷100ppm. Tiến hành chạy sắc ký 5 điểm chuẩn với các thông số tối ưu của quá trình sắc ký (tỉ lệ pha động MeOH: đệm axetat = 50:50; tốc độ dòng pha động 0.8ml/phút; $\lambda = 235\text{nm}$). Kết quả thực nghiệm thu được trên Hình 3 cho thấy có sự phụ thuộc tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và S_{peak} của axit benzoic trong khoảng nồng độ đã khảo sát.

3.4. Khảo sát độ lặp lại

Kết quả phân tích phụ thuộc vào quy trình xử lý mẫu, phương pháp phân tích và nền mẫu. Tiến hành xác định độ lặp lại của phương pháp trên 5 nền mẫu khác nhau với các loại sản phẩm sau: chả heo hấp, chả heo chiên, xúc xích, chả bò, chả giò sống. Xác định độ lặp

lại bằng cách phân tích mẫu lặp lại 5 lần của từng loại sản phẩm qua các giai đoạn: cân, xử lý mẫu, đo HPLC. Tiếp theo, xác định độ lệch chuẩn tương đối RSD% và so sánh với tiêu chuẩn của AOAC tại nồng độ tương ứng. Kết quả xác định được thể hiện trên Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả xác định độ tương thích của hệ thống HPLC

Tên mẫu	Hàm lượng axit benzoic trung bình trong mẫu	SD	RSD %
Chả heo hấp	0.364	0.0072	1.99
Chả heo chiên	0.384	0.0030	0.78
Nem chợ Tân An	0.151	0.0025	1.65
Chả bò	0.569	0.0062	1.09
Chả giò heo	0.130	0.0025	1.96

3.5. Khảo sát độ đúng

- Sự đáp ứng của quy trình phân tích với các mẫu có nồng độ khác nhau

Để xác định độ đúng, chúng tôi tạo 3 mẫu chả hấp có hàm lượng axit benzoic cao tương ứng gấp 3÷6 lần hàm lượng axit benzoic cho phép và tiến hành phân tích như quy trình đã tối ưu. Kết quả được thể hiện trong Bảng 6.

Bảng 6. Xác định độ thu hồi của QTPT với các mẫu chả có hàm lượng khác nhau

Mẫu	C% thực tế	C% phân tích	H %
1	0.3018	0.2869	95.1
2	0.3778	0.3434	90.9
3	0.4852	0.4646	95.7

- Đánh giá hệ số thu hồi của quy trình phân tích

Từ kết quả Bảng 6 cho thấy, độ thu hồi của axit benzoic trên các mẫu chả trong khoảng từ 90% đến 96%. Giá trị H% này phù hợp với yêu cầu trong quy định về độ thu hồi của AOAC là từ 90%-105%.

3.6. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp HPLC

Tiến hành khảo sát các nồng độ chuẩn axit benzoic từ 10ppm xuống 0.03ppm để xác định giới hạn định tính

LOD và giới hạn định lượng LOQ. Kết quả được thể hiện trong Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả xác định các giới hạn định tính LOD và giới hạn định lượng LOQ

Nồng độ chuẩn, C (ppm)	Lần	Chiều cao peak (H=S)	Chiều cao nhiễu (h=2N)	S/N
10	1	80.7	0.25	322.8
5	1	40.5	0.25	162.0
3	1	26.5	0.25	106.0
2	1	13.9	0.30	46.33
1	1	12.3	0.30	41.00
0.5	1	11.5	0.30	38.33
0.3	1	11.2	0.30	37.33
0.2	1	11.7	0.30	39.00
0.1	1	7.61	0.30	25.37
0.08	1	6.24	0.30	20.80
0.05	1	3.40	0.30	11.33
	2	3.61	0.30	12.03
	3	3.23	0.30	10.76
	4	3.28	0.30	10.93
0.03	1	1.33	0.30	4.43
	2	1.38	0.30	4.60
	3	1.42	0.30	4.73
	4	1.48	0.30	4.90

Như vậy, giới hạn định tính LOD = 0.03ppm và giới hạn định lượng LOQ = 0.05ppm.

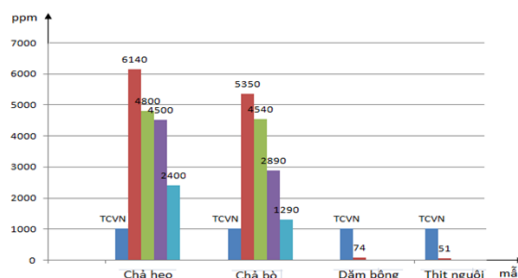
3.7. Kết quả kiểm tra liên phòng

Để đánh giá độ chính xác của phương pháp đã xây dựng, chúng tôi so sánh kết quả thử nghiệm tham chiếu qua kiểm tra liên phòng thí nghiệm. Tiến hành phân tích

hàm lượng axit benzoic trong 3 mẫu chả, trong đó có 1 mẫu chả thị trường và 2 mẫu chả tự chế biến. Các mẫu chả được chia làm 2 phần, 1 phần gửi đến Trung tâm Phân tích - đo lường Khu vực 2 (TTĐLKV2) và phần còn lại được phân tích theo phương pháp đã xây dựng tại phòng thí nghiệm Khoa Hóa - Trường Đại học Sư phạm - Đại học Đà Nẵng. Kết quả phân tích của hai phòng thí nghiệm được thể hiện trong Bảng 8. Kết quả phân tích cho thấy phương pháp đã xây dựng khá chính xác so với kết quả phân tích của TTĐLKV2.

3.8. Kết quả phân tích trên một số mẫu thị trường

Tiến hành phân tích 4 loại sản phẩm thực phẩm từ thịt với tổng 54 mẫu trên thị trường (chả heo, chả bò, dăm bông, thịt nguội) tại các khu vực Hòa Khánh, Chợ Cồn, Cẩm Lệ, Thanh Khê trên địa bàn thành phố Đà Nẵng. Kết quả (Hình 5) cho thấy hầu hết các mẫu dăm bông và thịt nguội đều đạt yêu cầu về chỉ tiêu chất phụ gia axit benzoic. Tuy nhiên, các mẫu chả heo và chả bò có tỉ lệ vượt yêu cầu về tiêu chuẩn chất phụ gia axit benzoic, có 13/28 mẫu chả heo và chả bò không đạt (chiếm 46.43%).



Hình 5. So sánh hàm lượng axit benzoic trong các mẫu sản phẩm với TCVN

Bảng 8. Kết quả kiểm tra liên phòng thí nghiệm chất phụ gia axit benzoic trong một số sản phẩm thực phẩm từ thịt

Mẫu	Nguồn gốc	Hàm lượng E211, ppm	Hàm lượng phân tích, ppm	
			TTĐLKV 2	QT đề xuất
Thịt heo xay, sống	Tự chế biến	1649	1884	1544
Chả heo chiên	Tự chế biến	1251	1113	1267
Chả heo hấp	Chợ Hòa Khánh	-	4149	4208

- Mẫu chả heo: Tổng số mẫu phân tích là 14 mẫu, trong đó có 7 mẫu không đạt. Hàm lượng các mẫu không đạt cao gấp 2-6 lần so với TCVN.

- Mẫu chả bò: Tổng số mẫu phân tích là 14 mẫu, trong đó có 6 mẫu không đạt. Hàm lượng các mẫu không đạt cao gấp 1.3-5.3 lần so với TCVN.

- Mẫu dăm bông, thịt nguội: Tổng số mẫu phân tích là 26 mẫu và các mẫu phân tích có hàm lượng axit benzoic rất thấp hoặc không phát hiện. Vậy các mẫu dăm bông, thịt nguội đều có hàm lượng chất phụ gia axit benzoic phù hợp với TCVN.

4. Kết luận, kiến nghị

Phương pháp định lượng chất bảo quản axit benzoic trong một số sản phẩm thực phẩm từ thịt bằng phương pháp HPLC đã được xây dựng và thẩm định. Các kết quả thực nghiệm thu được cho thấy phương pháp có giới hạn định lượng rộng, độ tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và diện tích peak, độ lặp lại và độ thu hồi khá tốt; đã kiểm tra 54 mẫu sản phẩm thực phẩm từ thịt tại thị trường Thành phố Đà Nẵng. Kết quả kiểm tra cho thấy: có 13/28 mẫu chả heo và chả bò không đạt tiêu chuẩn cho phép của Bộ Y tế (chiếm 46.43%). Tất cả 26 mẫu dăm bông và thịt nguội đều đạt yêu cầu về chỉ tiêu chất phụ gia axit benzoic. Với các số liệu đã phân tích cho thấy, hiện nay một số cơ sở sản xuất uy tín đã bước đầu có ý thức trong việc sử dụng phụ gia thực phẩm trong quá trình sản xuất. Tuy nhiên, bên cạnh đó vẫn còn có một số cơ sở vẫn vi phạm trong việc sử dụng phụ gia bảo quản. Thông thường các mẫu chả heo, chả bò không đạt chỉ tiêu ATVSTP đối với chất phụ gia axit benzoic thường được bán ở tiệm bánh mì gần khu phố chợ, trường học. Vậy các cơ quan chức năng cần

phải tăng cường thông tin, khuyến cáo và kiểm tra các cơ sở sản xuất thường xuyên để các cơ sở này có thể cung cấp được các sản phẩm đạt yêu cầu về VSATTP cho người tiêu dùng.

Tài liệu tham khảo

- [1] AOAC (2005), "Official methods of analysis of AOAC international".
- [2] Bộ Y tế, QCVN 4-2010/BYT "Quy chuẩn các kỹ thuật quốc gia về phụ gia thực phẩm - Chất bảo quản", *Nhà xuất bản Hà Nội, phụ lục 2,5*.
- [3] TCVN 8122:2009, "Sản phẩm rau, quả - Xác định hàm lượng axit benzoic và axit sorbic - Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao".
- [4] The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), Rome: FAO; May 2005, "Summary of Evaluations Performed by JECFA - Benzoic acid", Available from URL: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecval/jec_184.htm.
- [5] Saada, B.; Baria, M.F.; Saleha, M.I.; Ahmadb, Talib (2005), "Determination of Preservatives (Benzoic acid, Sorbic acid, Methylparaben and Propylparaben) in Foodstuffs Using High - performance Liquid Chromatography", *Journal of Chromatography A.*, 1073: 393-397.
- [6] FDA. May 2006, Data on Benzene in Soft Drinks and Other Beverages. FDA: Maryland; Available from URL: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/benzdata.html>

OPTIMIZING THE PROCESS OF ANALYZING AND EVALUATING CONTENT OF BENZOIC ACID ADDITIVES IN SOME MEAT PRODUCTS USING HIGH - PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Abstract: This article presents a process for analyzing benzoic acid in meat products using high-performance liquid chromatography (HPLC) in defined optimal conditions (room temperature; C18 column; detector DAD, $\lambda = 235\text{nm}$; injection sample volume $10\mu\text{L}$; ratio of mobile phase solvent MeOH/acetate buffer 50:50 with a flow rate of 0.8 mL/min). The established process meets the standard requirements of AOAC:directrix equation, correlation coefficient; limit of detection $\text{LOD} = 0.03\text{ppm}$ and limit of quantification $\text{LOQ} = 0.05\text{ppm}$; $\text{RSD}_{\text{retention time}} = 0.33$; $\text{RSD}_{\text{peak area}} = 1.63\%$; recovery level, $\text{H\%} = 90\% \div 96\%$; Interlaboratory test comparison shows that the method constructed has brought good results. Analyzing 54 samples of food products made from meat collected in the markets proved that the samples of ham and cold cuts satisfied quality indicators for benzoic acid additives; however, 13 out of 28 samples (occupying 46.43%) of pork pie and beef pie failed to meet those indicators, for their content of benzoic acid was as high as $1.3 \div 6$ times compared to Vietnamese standards.

Key words: additives; acid benzoic; natribenzoate; meat products; HPLC.