

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF SIX PHTHALATE COMPOUNDS IN EYELASH ADHESIVE BY GC-MS TECHNIQUE

LE HOAI TRANG¹, NGUYEN THI KIM PHUONG², NGUYEN THANH HA², NGUYEN BA THUAN¹,
TRUONG MINH NHUT³, NGUYEN HUU LAC THUY^{1,✉}

¹Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

²Institute of Drug Quality Control Ho Chi Minh City

³Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City

✉Corresponding author: nguyenhuulacthuy@ump.edu.vn

Received July 17th, 2024

Accepted October 08th, 2024

Abstract: A highly sensitive GC-MS method was successfully developed for simultaneous analysis of 6 phthalates in eyelash adhesive products, of which four phthalates are in the prohibited list of the ASEAN Harmonization System Agreement for Cosmetic Management. The suitable chromatographic conditions were as follows: Capillary column DB – 5ms (30 m × 0.25 mm; 0.25 μm); helium as carrier gas; flow rate of 1.0 ml/min; injection volume of 1 μl in split injection mode with split ratio is 1:5; the oven temperature programmed at 50 °C for 1 min, from 50 °C to 280 °C at 30 °C min⁻¹, held at 280 °C for 5 min, then increased to 310 °C at 10 °C min⁻¹ and held 310 °C for 2 min; electron ionization at 70 eV; ion source temperature at 230 °C; interface temperature at 280 °C and injection port temperature at 280 °C; analysis mode is Scan mode. The method was validated according to the guidance of ICH topic Q2 (R1) and ISO 12787:2011 for cosmetic analysis by chromatographic method. By using di-n-butyl phthalate-d4 as internal standard, a very good linearity range of the phthalates (0.01 – 3.00 μg/ml, R² > 0.998) was achieved. The recoveries of the phthalates at ten concentration levels (from LOQ to 300 × LOQ) were in the range of 96.40 – 106.96 % with the relative standard deviations of 0.26 – 4.60 % (n = 3). LOD was 0.003 μg/ml.

Keywords: Phthalate, eyelash adhesive, GC-MS.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI 6 PHTHALAT TRONG KEO DÁN MI BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ GHÉP NỐI KHỐI PHỔ GC-MS

LÊ HOÀI TRANG¹, NGUYỄN THỊ KIM PHƯƠNG², NGUYỄN THANH HÀ², NGUYỄN BÁ THUẬN¹,
TRUONG MINH NHUT³, NGUYỄN HỮU LẠC THỦY^{1,✉}

¹Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Viện Kiểm nghiệm Thuốc Thành phố Hồ Chí Minh

³Khoa Y học Cổ truyền, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

✉Tác giả liên hệ: nguyenhuulacthuy@ump.edu.vn

Nhận bài ngày 17 tháng 7 năm 2024

Chấp nhận đăng ngày 08 tháng 10 năm 2024

Tóm tắt: Quy trình phân tích đồng thời 6 phthalat trong sản phẩm keo dán mi bằng phương pháp GC-MS, trong đó bao gồm 4 phthalat thuộc danh sách chất cấm do Hệ thống hòa hợp về quản lý mỹ phẩm ASEAN quy

định. Điều kiện sắc ký: cột mao quản DB – 5ms (30 m × 0,25 mm; 0,25 μm); khí mang heli; tốc độ dòng 1,0 ml/phút; thể tích tiêm 1 μl ở chế độ chia dòng với tỷ lệ 1:5; chương trình nhiệt: Bắt đầu ở 50 °C trong 1 phút, từ 50 °C tới 280 °C với tốc độ 30 °C/phút và giữ ở 280 °C trong 5 phút, sau đó tăng tới 310 °C với tốc độ 10 °C/phút và giữ ở 310 °C trong 2 phút; năng lượng ion hóa 70 eV; nhiệt độ nguồn ion là 230 °C; nhiệt độ tứ cực là 280 °C; nhiệt độ bộ phận tiêm mẫu là 280 °C; chế độ quét phổ Scan. Phương pháp đã được thẩm định theo quy định của ICH topic Q2 (R1) và ISO 12787:2011 về phân tích mỹ phẩm bằng phương pháp sắc ký. Với nội chuẩn di-*n*-butyl phthalat-*d*₄, khoảng tuyến tính được xác định từ 0,01 – 3,00 μg/ml với $R^2 > 0,998$. Tỷ lệ phục hồi được xác định ở 10 mức nồng độ, từ LOQ tới 300 × LOQ, thu được giá trị thu hồi từ 99,2 % - 109,4 % với độ lệch chuẩn từ 0,2 – 4,7 % (n = 3). LOD là 0,003 μg/ml.

Từ khóa: Phthalat, keo dán mi, GC-MS.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Phthalat là chất phụ gia có trong keo dán mi (KDM) với vai trò tăng độ bóng, bền và độ bám dính cho sợi mi giả. Kết quả khảo sát cho thấy có 70 % sử dụng KDM ít nhất 2 – 3 lần [1]. Việc phơi nhiễm phthalat có thể làm tăng nguy cơ mắc bệnh hen suyễn; làm giảm khả năng sinh sản của phụ nữ và có thể gây ra phát triển vú sớm ở bé gái, phát triển bất thường bộ phận sinh dục và thay đổi nồng độ testosterone ở bé trai [2]. Phthalat có khả năng tích tụ và gây suy giảm chức năng các cơ quan như gan, phổi, lách với các lượng khác nhau; đồng thời cũng được chứng minh gây ra sự gia tăng của các tế bào khối u vú [3].

Đã có công bố về phương pháp GC-MS trong phân tích các phthalat trong thực phẩm, bao bì thực phẩm, bao bì y tế, mỹ phẩm [4, 5]. Tuy nhiên, chưa tìm thấy các công bố về định lượng phthalat trong mẫu KDM. Trong khi đó,

KDM là một trong số các mỹ phẩm được sử dụng phổ biến và việc kiểm soát chất lượng mỹ phẩm là yêu cầu bắt buộc.

Các cơ quan quản lý mỹ phẩm trên thế giới quy định không được có phthalat trong mỹ phẩm [6, 7]. Tại Việt Nam, qui định cấm sử dụng một số phthalat như di-*n*-butyl phthalat, di-*n*-pentyl phthalat, benzyl butyl phthalat và diethylhexyl phthalat [8]. Vì vậy quy trình phân tích này góp phần vào công tác kiểm nghiệm và sản xuất mỹ phẩm.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là 6 phthalat, gồm dimethyl phthalat (DMP), diethyl phthalat (DEP), di-*n*-butyl phthalat (DBP), di-*n*-pentyl phthalat (DNPP), benzyl butyl phthalat (BBP) và diethylhexyl phthalat (DEHP) trên mẫu thử gồm 33 mẫu KDM thu thập từ thị trường. Trong đó có 4 phthalat thuộc danh mục chất cấm DBP, DNPP, BBP và DEHP.

Bảng 1. Các phthalat nghiên cứu

	DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP	<i>d</i> ₄ -DBP
M (g/mol)	194,18	222,24	278,34	306,40	312,40	390,60	282,37
Số lô	G1200712	G1409717	G1397398	G1404238	G1410189	G1397399	809338
Độ tinh khiết (%)	98,86	99,64	99,42	99,05	98,24	99,52	99,24

2.2. Chất đối chiếu, trang thiết bị, dung môi và hoá chất

Chất đối chiếu: DMP, DEP, DBP, DNPP, BBP và DEHP do Công ty LGC cung cấp. Nội chuẩn sử dụng là đồng vị di-*n*-butyl phthalat-*d*₄ (*d*₄-DBP) do Công ty HPC cung cấp.

Trang thiết bị: Hệ thống Shimadzu QP2020NX, đầu dò MS 18454, bộ tiêm mẫu tự động AOC-20i Plus, cân phân tích, bể siêu âm và một số dụng cụ thủy tinh đạt yêu cầu chính xác dùng trong phân tích. Các thiết bị và dụng cụ được hiệu chuẩn theo GLP và ISO/IEC 17025.

Dung môi, hóa chất: *n*-hexan, tetrahydrofuran (THF), methanol (Merck).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Khảo sát quy trình xử lý mẫu

Quy trình xử lý mẫu chung: Cân chính xác khoảng 0,5 g mẫu placebo cho vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác 1,5 ml dung dịch nội chuẩn 10 μg/ml và một thể tích chính xác dung dịch đối chiếu gốc để có được nồng độ mỗi chất phân tích tương ứng với mỗi thử nghiệm khảo sát, thêm 20 ml dung môi chiết đến 2/3 thể tích bình, lắc

3000 vòng/phút trong 5 phút. Tiếp tục siêu âm trong 30 phút, định mức bằng dung môi chiết, lắc đều. Lọc qua giấy lọc 0,22 μm , thu dịch lọc và tiến hành sắc ký trên hệ thống GC-MS.

Tiến hành khảo sát các yếu tố:

Khảo sát chọn mẫu placebo: Mẫu placebo được chọn từ các mẫu KDM có số Công bố mỹ phẩm thu thập trên thị trường. Mẫu placebo được xử lý theo quy trình xử lý mẫu chung nhưng không thêm dung dịch đối chiếu gốc và được triển khai sắc ký trên hệ thống GC-MS. **Yêu cầu:** Sắc ký đồ (SKĐ) dung dịch placebo không phát hiện tín hiệu phthalat hoặc nếu có tín hiệu không được quá 3 lần nhiễu đường nền và tín hiệu hàm lượng phthalat trong dung dịch placebo là nhỏ nhất.

Khảo sát dung môi chiết: Methanol, tetrahydrofuran, *n*-hexan, hỗn hợp *n*-hexan – THF (2 : 1). Mẫu placebo được chọn dựa trên kết quả khảo sát mẫu placebo được xử lý theo quy trình xử lý mẫu chung với lần lượt từng dung môi khảo sát. **Yêu cầu:** Dung môi được lựa chọn khi sắc ký đồ có độ nhiễu đường nền thấp và % thu hồi phthalat trong khoảng 90,0 – 107,0 %.

2.3.2. Khảo sát điều kiện sắc ký

Điều kiện sắc ký dự kiến: Cột mao quản DB – 5ms (30 m $\times$ 0,25 mm; 0,25 μm), khí mang heli, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, thể tích tiêm 1 μl , năng lượng ion hóa 70 eV, nhiệt độ nguồn ion là 230 $^{\circ}\text{C}$, nhiệt độ tứ cực là 280 $^{\circ}\text{C}$, nhiệt độ bộ phận tiêm mẫu là 280 $^{\circ}\text{C}$, chế độ quét phổ Scan.

Các điều kiện sắc ký khảo sát bao gồm:

Chương trình nhiệt:

CTN 1: Bắt đầu ở 50 $^{\circ}\text{C}$ trong 1 phút, từ 50 $^{\circ}\text{C}$ tới 250 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 30 $^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và giữ ở 250 $^{\circ}\text{C}$ trong 5 phút, sau đó tăng tới 280 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 10 $^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và giữ ở 280 $^{\circ}\text{C}$ trong 2 phút.

CTN 2: Bắt đầu ở 50 $^{\circ}\text{C}$ trong 1 phút, từ 50 $^{\circ}\text{C}$ tới 280 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 30 $^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và giữ ở 280 $^{\circ}\text{C}$ trong 5 phút, sau đó tăng tới 310 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 10 $^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và giữ ở 310 $^{\circ}\text{C}$ trong 2 phút.

CTN 3: Bắt đầu ở 50 $^{\circ}\text{C}$ trong 1 phút, từ 50 $^{\circ}\text{C}$ tới 280 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 20 $^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và giữ ở 280 $^{\circ}\text{C}$ trong 5 phút, sau đó tăng tới 310 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 10 $^{\circ}\text{C}/\text{phút}$ và giữ ở 310 $^{\circ}\text{C}$ trong 2 phút. **Yêu cầu:** Chọn chương trình nhiệt tách được phthalat và thời gian phân tích là ngắn nhất.

Chế độ tiêm: Chế độ không chia dòng, chia dòng (1 : 5) và chia dòng (1 : 10). Lựa chọn điều kiện cho tín hiệu các phthalat có diện tích pic lớn và đường nền ít nhiễu.

Quy trình được thẩm định theo hướng dẫn từ 2 tài liệu [9, 10].

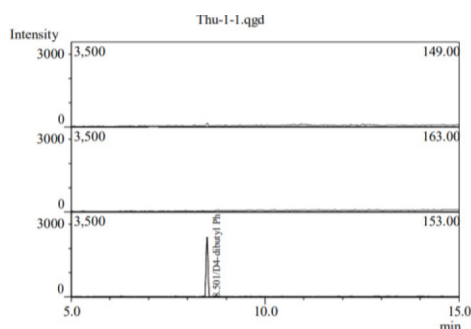
3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả khảo sát quy trình xử lý mẫu

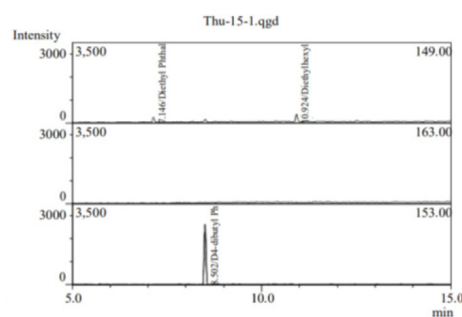
Chọn mẫu placebo: Trong số 3 mẫu KDM có số Công bố mỹ phẩm (01, 15 và 16), sắc ký đồ cho thấy mẫu 01 có tín hiệu không quá 3 lần nhiễu đường nền và hàm lượng của các phthalat cho tín hiệu nhỏ nhất. Mẫu 01 được chọn làm mẫu placebo, kết quả được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Hàm lượng của các phthalat phân tích trong mẫu placebo.

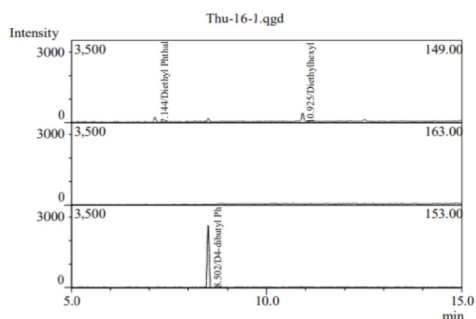
Mẫu placebo	Hàm lượng TB ($\mu\text{g}/\text{ml}$) (n = 3)					
	DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP
Mẫu 01	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Mẫu 15	<LOD	0,022	<LOD	<LOD	<LOD	0,041
Mẫu 16	<LOD	0,022	<LOD	<LOD	<LOD	0,040



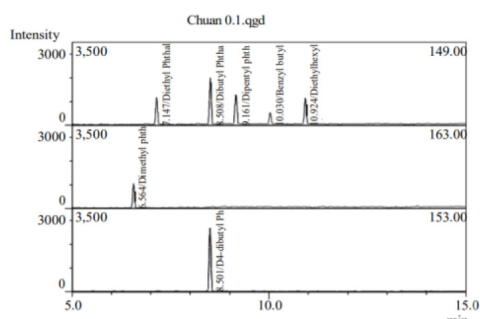
Hình 1a) Sắc ký đồ của mẫu 01



Hình 1b) Sắc ký đồ của mẫu 15



Hình 1c) Sắc ký đồ của mẫu 16



Hình 1d) Sắc ký đồ của mẫu đối chiếu

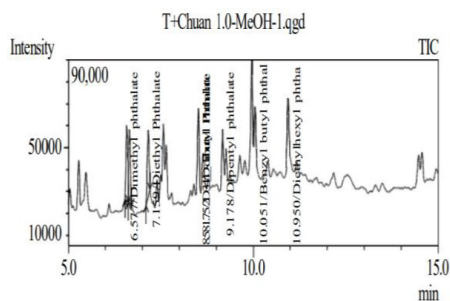
Hình 1. Sắc ký đồ kết quả khảo sát mẫu placebo.

Dung môi chiết xuất: Mẫu giả lập là dung dịch placebo thêm chất đối chiếu được chiết với hỗn hợp Hex-THF cho tỷ lệ thu hồi của các phthalat là cao nhất và thuộc khoảng

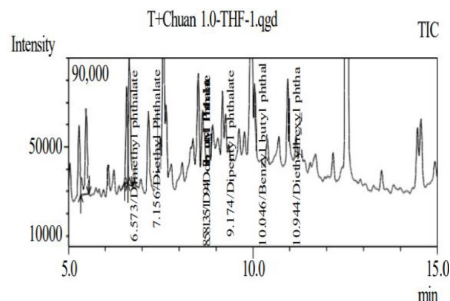
90,0 – 107,0 %, kết quả cụ thể được trình bày trong Bảng 3. Sắc ký đồ (Hình 2a) cho thấy ít tín hiệu nhiễu khi chiết bằng hỗn hợp dung môi.

Bảng 3. Tỷ lệ thu hồi của các phthalat trong mẫu giả lập ($n = 3$).

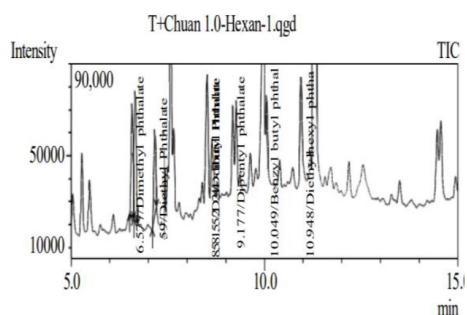
Phthalat	MeOH		THF		Hex		Hex-THF	
	% thu hồi	% RSD	% thu hồi	% RSD	% thu hồi	% RSD	% thu hồi	% RSD
DMP	86,8	5,9	80,9	5,1	88,1	5,9	106,1	0,4
DEP	90,9	4,8	86,7	5,4	93,9	5,6	105,7	0,5
DBP	88,0	4,7	84,9	5,2	80,4	4,9	104,8	1,3
DNPP	81,4	4,7	78,1	5,6	83,1	5,7	104,7	1,3
BBP	88,5	5,5	86,0	4,4	89,0	5,0	105,4	0,6
DEHP	86,1	4,9	84,2	4,6	85,2	5,4	102,5	1,1



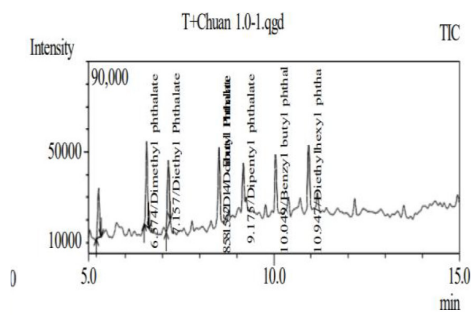
Hình 2a) SKĐ mẫu chiết bằng MeOH



Hình 2b) SKĐ mẫu chiết bằng THF



Hình 2c) SKĐ mẫu chiết bằng *n*-hexan.



Hình 2d) SKĐ mẫu chiết bằng hỗn hợp Hex-THF.

Hình 2. Sắc ký đồ kết quả khảo sát dung môi chiết xuất.

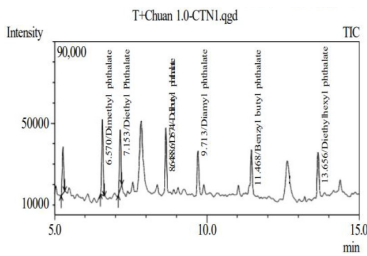
3.2. Kết quả khảo sát điều kiện sắc ký

Chương trình nhiệt: Tiến hành sắc ký mẫu giả lập ở nồng độ 1 µg/ml theo các chương trình nhiệt khảo sát, quan sát sắc ký đồ nhận thấy: CTN 1 và CTN 3 có tín hiệu

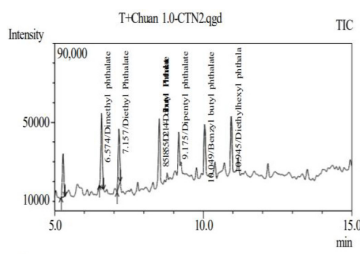
nhiều đường nền cao, CNT 3 có thời gian phân tích dài, CTN 2 cho thời gian phân tích là ngắn nhất và đường nền ít nhiễu nhất. Vì vậy CTN 2 được lựa chọn, kết quả cụ thể được trình bày trong Bảng 4 và Hình 3.

Bảng 4. Thời gian lưu của các pic phthalat khi sắc ký ở các CTN khảo sát.

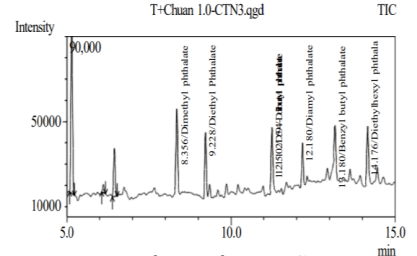
Chương trình nhiệt	Thời gian lưu (phút)					
	DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP
CTN 1	6,570	7,153	8,657	9,713	11,468	13,656
CTN 2	6,574	7,157	8,521	9,175	10,049	10,945
CTN 3	8,356	9,228	11,259	12,180	13,180	14,176



Hình 3a) SKĐ mẫu phân tích ở CTN 1.



Hình 3b) SKĐ mẫu phân tích ở CTN 2.



Hình 3c) Sắc ký đồ của mẫu giả lập phân tích ở CTN 3.

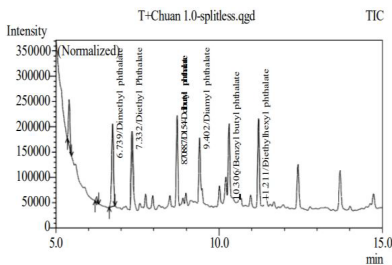
Hình 3. SKĐ kết quả khảo sát các chương trình nhiệt.

Chế độ tiêm: Tiến hành sắc ký mẫu giả lập ở nồng độ 1 µg/ml tại các tỷ lệ chia dòng: Không chia dòng, chia dòng (1 : 5) và chia dòng (1 : 10), kết quả được trình bày trong Bảng 5 và Hình 4.

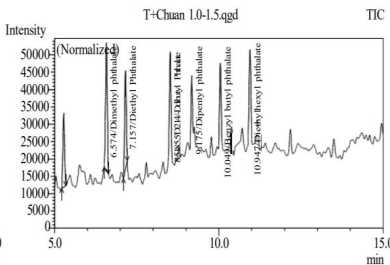
Bảng 5. Diện tích pic và S/N của các phthalat khi phân tích ở các tỷ lệ chia dòng khảo sát.

Phthalat	Không chia dòng		Tỷ lệ 1 : 5		Tỷ lệ 1 : 10	
	S_{pic}	S/N	S_{pic}	S/N	S_{pic}	S/N
DMP	226562	1026,61	43273	856,11	27885	327,32
DEP	183300	2571,84	39849	2132,73	20468	638,46
DBP	284590	7109,95	78722	6952,73	26457	974,93
DNPP	254279	2489,23	56368	1445,82	22252	1144,15
BBP	125551	970,19	25810	819,00	10680	530,32
DEHP	173885	1847,00	38913	1874,50	13212	405,38
D ₄ -DBP	50162	511,21	10085	510,00	4864	93,07

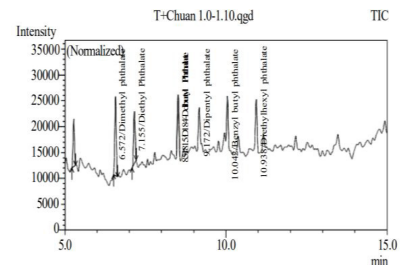
Thông số diện tích pic và tín hiệu trên nhiễu ở mẫu giả lập sắc ký theo chế độ tiêm chia dòng (1 : 5) cho tín hiệu cao hơn so với chế độ tiêm chia dòng (1 : 10), đồng nghĩa với việc thu được giới hạn phát hiện thấp hơn. Chế độ tiêm chia dòng (1 : 5) đưa lượng mẫu vào hệ thống ít hơn so với chế độ tiêm không chia dòng, giúp giảm nguy cơ bắn cột và đầu dò khi phân tích nhiều mẫu liên tục. Do đó, chế độ tiêm chia dòng tỷ lệ (1 : 5) được lựa chọn.



Hình 4a) SKĐ chế độ không chia dòng



Hình 4b) SKĐ chế độ chia dòng (1: 5)



Hình 4c) Sắc ký đồ của mẫu giả lập khi sắc ký ở chế độ chia dòng (1 : 10).

Hình 4. Sắc ký đồ kết quả khảo sát tỷ lệ chia dòng.

3.3. Thăm định phương pháp phân tích

Dung dịch nội chuẩn: d_4 -DBP là 10 $\mu\text{g/ml}$ trong n -hexan.

Dung dịch đối chiếu gốc: Nồng độ phthalat là 10 $\mu\text{g/ml}$ trong n -hexan.

Từ dung dịch nội chuẩn và dung dịch đối chiếu gốc pha loãng trong n -hexan để thu được dãy dung dịch tuyến tính có nồng độ các phthalat lần lượt là 0,01; 0,03; 0,05; 0,10; 0,20; 0,30; 0,50; 1,00; 2,00; 3,00 $\mu\text{g/ml}$ và nồng độ nội chuẩn là 0,30 $\mu\text{g/ml}$. Lọc qua giấy lọc RC 0,22 μm .

Dung dịch đối chiếu: Nồng độ phthalat là 0,1 $\mu\text{g/ml}$ và nội chuẩn là 0,30 $\mu\text{g/ml}$ trong n -hexan.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g mẫu KDM cho vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác một thể tích dung dịch nội chuẩn gốc để được nồng độ

0,3 $\mu\text{g/ml}$. Thêm 20 ml hỗn hợp n -hexan – THF (2 : 1), lắc 3000 vòng/phút trong 5 phút. Tiếp tục siêu âm trong 30 phút, định mức bằng hỗn hợp dung môi n -hexan – THF (2 : 1), lắc đều. Lọc qua giấy lọc RC 0,22 μm , thu dịch lọc và tiến hành sắc ký trên hệ thống GC-MS.

Mẫu trắng: Hỗn hợp dung môi n -hexan – THF (2 : 1).

Điều kiện sắc ký: Cột mao quản DB – 5ms (30 m $\times$ 0,25 mm; 0,25 μm), khí mang heli, tốc độ dòng 1,0 ml/phút, thể tích tiêm 1 μl , chế độ tiêm chia dòng tỷ lệ (1 : 5), năng lượng ion hóa 70 eV, nhiệt độ nguồn ion là 230 $^{\circ}\text{C}$, nhiệt độ tứ cực là 280 $^{\circ}\text{C}$, nhiệt độ bộ phận tiêm mẫu là 280 $^{\circ}\text{C}$, chế độ quét phổ Scan.

Chương trình nhiệt: Bắt đầu ở 50 $^{\circ}\text{C}$ trong 1 phút, từ 50 $^{\circ}\text{C}$ tới 280 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 30 $^{\circ}\text{C/phút}$ và giữ ở 280 $^{\circ}\text{C}$ trong 5 phút, sau đó tăng tới 310 $^{\circ}\text{C}$ với tốc độ 10 $^{\circ}\text{C/phút}$ và giữ ở 310 $^{\circ}\text{C}$ trong 2 phút. Các ion đặc trưng định tính, định lượng của các phthalat phân tích:

	DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP	d_4 -DBP
Ion định lượng (m/z)	163	149	149	149	149	149	153
Ion định tính (m/z)	77; 133	176; 177	150; 205	150; 237	91; 206	57; 167	57; 154

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu 6 lần liên tiếp. Phép thử chỉ có giá trị khi: RSD của thời gian lưu $\leq 1,0$ % và tỷ lệ diện tích pic của các phthalat so với nội chuẩn $\leq 5,3$ %; hệ số kéo đuôi của các pic trong khoảng 0,9 – 1,2; số đĩa lý thuyết > 50000 .

3.3.1. Tính phù hợp hệ thống

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu 6 lần liên tiếp, kết quả cụ thể được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống trên dung dịch đối chiếu ($n = 6$).

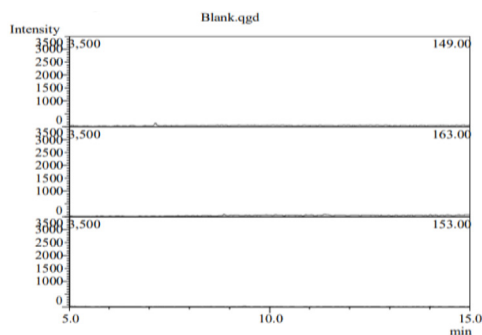
Phthalat	Tỷ lệ TB $S_{\text{phthalat}}/S_{\text{IS}}$	RSD (%)	t_R TB (phút)	RSD (%)	Hệ số kéo đuôi TB	Số đĩa lý thuyết TB
DMP	0,366	2,5	6,565	0,0	1,002	62981
DEP	0,402	2,2	7,147	0,0	1,014	73488
DBP	0,678	2,4	8,510	0,0	1,008	105870
DNPP	0,545	2,6	9,163	0,0	0,997	120861
BBP	0,202	2,3	10,032	0,0	1,014	138277
DEHP	0,362	2,9	10,928	0,0	1,011	156175
D_4 -DBP	1,000	0,0	8,503	0,0	1,005	105862

Quy trình phân tích đạt tính phù hợp hệ thống.

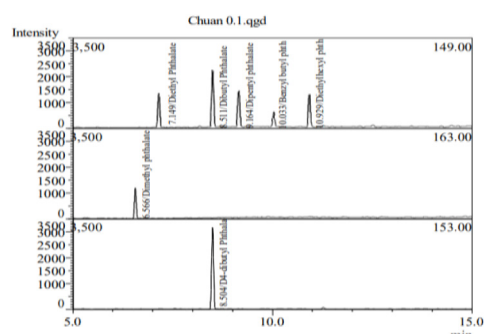
3.3.2. Tính đặc hiệu

Tiến hành sắc ký: Mẫu trắng mẫu đối chiếu, mẫu

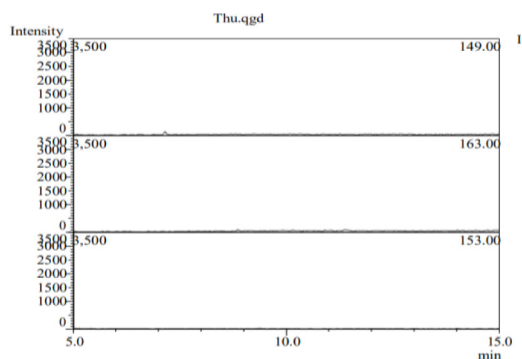
placebo (không có nội chuẩn), mẫu placebo (có nội chuẩn) và mẫu giả lập ở nồng độ 0,1 $\mu\text{g/ml}$, kết quả cụ thể được trình bày trong Hình 5.



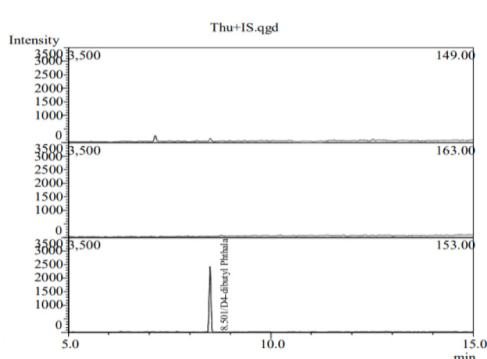
Hình 5a) SKĐ mẫu trắng



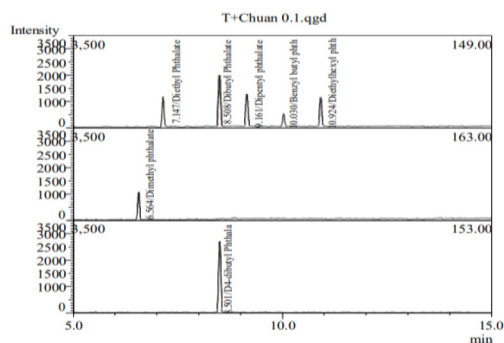
Hình 5b) SKĐ mẫu đối chiếu



Hình 5c) SKĐ mẫu placebo



Hình 5d) SKĐ mẫu placebo + nội chuẩn



Hình 5e) SKĐ mẫu giả lập 0,1 µg/ml.

Hình 5. Sắc ký đồ các dung dịch khảo sát tính đặc hiệu.

Tín hiệu thu được từ các sắc ký đồ cho thấy quy trình phân tích đạt tính đặc hiệu.

3.3.3. Tính tuyến tính và khoảng xác định

Tiến hành sắc ký dãy dung dịch tuyến tính, kết quả được trình bày ở Bảng 7.

Bảng 7. Kết quả khảo sát tính tuyến tính và khoảng xác định.

Phthalat	DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP
PTHQ	$\hat{y} = 4,2719x$	$\hat{y} = 4,0018x$	$\hat{y} = 7,7225x$	$\hat{y} = 5,7386x$	$\hat{y} = 2,5319x$	$\hat{y} = 3,8468x$
R	0,9995	0,9995	0,9997	0,9998	0,9995	0,9996
Khoảng xác định		0,01 – 3,00 µg/ml				

3.3.4. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

LOQ của các phthalat là 0,01 µg/ml được xác định từ thực nghiệm trên các mẫu giả lập được pha loãng đến nồng độ mà tại đó tỷ lệ S/N $\approx$ 10. Tại nồng độ LOQ, đồng thời đạt độ chính xác (n = 6) (Bảng 8) và độ đúng (n = 3) (Bảng 9).

LOD của các phthalat được xác định bằng 1/3 giá trị LOQ tương ứng là 0,003 µg/ml và kiểm chứng tỷ lệ S/N $\approx$ 3.

3.3.5. Độ chính xác

Độ chính xác được đánh giá bằng cách tiến hành sắc ký 6 mẫu giả lập tại nồng độ 0,01 µg/ml được chuẩn bị độc lập, lặp lại trong 2 ngày, kết quả cụ thể được trình bày trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả khảo sát độ chính xác.

		DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP
Ngày 1 (n = 6) (22/06/2024)	Hàm lượng TB (µg/ml)	0,0104	0,0104	0,0101	0,01004	0,0103	0,0103
	RSD (%)	3,0	2,6	2,7	3,6	3,7	3,1
Ngày 2 (n = 6) (23/06/2024)	Hàm lượng TB (µg/ml)	0,0103	0,0105	0,0101	0,0105	0,0103	0,0103
	RSD (%)	2,0	1,9	1,6	2,7	2,5	2,9
TB 2 ngày (n = 12)	Hàm lượng TB (µg/ml)	0,0104	0,0104	0,0101	0,0104	0,0103	0,0103
	RSD (%)	2,4	2,3	2,2	3,2	3,0	2,9

Quy trình phân tích đạt độ chính xác.

3.3.6. Độ đúng

Độ đúng của quy trình phân tích được đánh giá bằng cách tiến hành sắc ký các mẫu giả lập tại 10 mức nồng độ, từ LOQ tới $300 \times$ LOQ, mỗi nồng độ chuẩn bị 3 dung dịch độc lập, kết quả cụ thể được trình bày ở Bảng 9.

Bảng 9. Kết quả khảo sát độ đúng ở mỗi mức nồng độ (n = 3).

Nồng độ (µg/ml)	DMP		DEP		DBP		DNPP		BBP		DEHP	
	TLTH TB (%)	RSD (%)	TLTH TB (%)	RSD (%)	TLTH TB (%)	RSD (%)	TLTH TB (%)	RSD (%)	TLTH TB (%)	RSD (%)	TLTH TB (%)	RSD (%)
0,01 (LOQ)	102,6	3,6	102,9	3,1	102,7	3,9	100,7	4,6	102,6	3,8	101,6	4,3
0,03	102,7	3,9	105,0	2,5	102,0	3,8	104,4	2,2	102,1	3,0	103,0	3,4
0,05	103,8	2,8	103,9	2,4	102,3	2,8	103,3	2,2	104,6	2,1	103,7	2,8
0,10	105,2	2,8	104,7	1,9	101,2	2,2	104,1	2,1	103,9	2,1	104,5	2,4
0,20	104,9	1,8	106,0	1,2	105,1	1,6	102,8	2,5	104,6	1,7	104,4	2,1
0,30	105,6	1,3	105,8	1,0	104,1	1,2	104,1	2,4	104,9	1,5	105,3	1,2
0,50	105,8	1,3	106,2	0,9	104,6	1,0	105,3	1,4	105,2	1,1	105,3	1,2
1,00	105,9	0,9	106,2	0,5	105,4	1,2	105,2	1,3	105,6	1,0	105,8	1,1
2,00	105,8	0,6	106,4	0,5	104,3	0,9	105,8	0,5	105,5	1,0	105,6	1,1
3,00	106,2	0,3	106,3	0,3	104,9	0,8	104,9	0,5	105,7	0,5	105,9	0,4
TB	104,9	2,01	105,3	1,42	103,6	1,93	104,0	1,96	104,4	1,78	104,5	2,0

Tỷ lệ thu hồi (TLTH) của các phthalat phân tích ở mỗi mức nồng độ đều nằm trong khoảng 90,0 – 107,0 % và giá trị RSD tỷ lệ thu hồi đều < 5,3 %. Quy trình phân tích đạt độ đúng.

3.4. Khảo sát phthalat trong các sản phẩm keo dán mi trên thị trường

Số lượng sản phẩm KDM thu thập từ thị trường là 33 mẫu và được mã hóa từ số 01 tới 33. Trong đó, có 03/33 mẫu có số Công bố mỹ phẩm (CBMP) in trên nhãn, 04/33

mẫu được sản xuất trong nước và không có số CBMP, 26 mẫu còn lại là hàng nhập khẩu không có nhãn phụ Tiếng Việt và cũng không có số CBMP, 08/33 mẫu có màu và các mẫu còn lại không màu.

Kết quả phân tích được trình bày ở Bảng 10.

Bảng 10. Kết quả khảo sát sự có mặt của các phthalat nghiên cứu trong 33 mẫu KDM.

Phthalat	DMP	DEP	DBP	DNPP	BBP	DEHP
Số lượng mẫu phát hiện được (> LOD)	10	32	7	18	14	32
Số lượng mẫu định lượng được (> LOQ)	2	32	6	7	10	31

Kết quả: 32 mẫu KDM (chiếm 96,7 %) có chứa DEP và DEHP; 18 mẫu (chiếm 54,5 %) có chứa DNPP; 14 mẫu (chiếm 42,4 %) có chứa BBP; 10 mẫu (chiếm 30,3 %) có chứa DMP; 7 mẫu (chiếm 21,2 %) có chứa DBP.

4. BÀN LUẬN

Keo dán mi là mẫu thử có nền mẫu phức tạp và quy trình phân tích trong nghiên cứu này được xây dựng trên cơ sở phân tích tạp nên việc khảo sát chọn mẫu placebo và dung môi chiết xuất phthalat đóng vai trò thiết yếu nhằm đảm bảo quy trình phân tích đạt yêu cầu về tính đặc hiệu và tỷ lệ phục hồi. Việc sử dụng ion đặc trưng chung của nhóm phthalat ($m/z = 149$) giúp thu được tín hiệu cao và LOQ của các phthalat thấp hơn nhiều so với sử dụng ion đặc trưng riêng cho từng chất. Vì cùng sử dụng chung ion định lượng ($m/z = 149$) và các dẫn xuất phthalat trong nghiên cứu có khối lượng phân tử gần nhau (DNPP có $M = 306$; BBP có $M = 312$); nên để đạt yêu cầu định lượng thì cần phải khảo sát điều kiện sắc ký để tách hoàn toàn các phthalat này. Trong khảo sát này, chương trình nhiệt là ảnh hưởng lớn nhất đến hiệu quả tách, trong khi đó chế độ

tiêm lại ảnh hưởng đến tín hiệu đáp ứng. Kết quả khảo sát LOD và LOQ cho thấy có thể ứng dụng quy trình để phát hiện các phthalat có nồng độ từ 0,3 ppm và định lượng các phthalat có nồng độ từ 1 ppm trong mẫu KDM mà vẫn đảm bảo độ chính xác và độ đúng cao.

Kết quả khảo sát cho thấy có 32/33 mẫu KDM được thu thập từ thị trường phát hiện sự có mặt của các phthalat nghiên cứu, bao gồm 4 phthalat thuộc danh sách cấm. Trong đó, DEHP và DEP là 2 phthalat được sử dụng phổ biến nhất, kế tiếp là DNPP và BBP. Có thể thấy sản phẩm KDM là nguồn phơi nhiễm đáng kể của hợp chất phthalat, bao gồm các phthalat bị cấm có mặt trong mỹ phẩm lẫn các phthalat chưa có quy định kiểm soát.

5. KẾT LUẬN

Quy trình định lượng đồng thời 6 phthalat trong keo dán mi bằng phương pháp GC-MS đã được xây dựng và thẩm định đạt yêu cầu. Quy trình có thể được áp dụng vào việc kiểm soát nhóm hợp chất phthalat trong các sản phẩm keo dán mi trên thị trường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Rezeda Y. G., et. al. (2020), Application of Adhesives in Cosmetology, *Key Engineering Materials*, 869, pp. 88-92.
- Hauser R., et al. (2007), DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites, *Human reproduction*, 22(3), pp. 688-695.
- Kim I.Y., Han S.Y., Moon A. (2004), Phthalates inhibit tamoxifen-induced apoptosis in MCF-7 human breast cancer cells, *Journal of Toxicology Environmental Health*, 67(23-24)(Part A: Current Issues), pp. 2025-2035, doi:https://doi.org/10.1080/15287390490514750.
- Nguyễn Hữu Lạc Thủy và cộng sự (2021), Xây dựng quy trình phân tích đồng thời một số phthalat trong nước sơn móng tay bằng phương pháp GC-MS, *Tạp chí Y Dược học*, 2021, tr. 22.
- Hao-Yu S., et. al. (2007), Simultaneous determination of seven phthalates and four parabens in cosmetic products using HPLC-DAD and GC-MS methods, *Journal of separation science*, 30(1), pp. 48-54.
- ASEAN Cosmetic Committee (2023), Annex II, III, IV, VI, VII - Annexes of the ASEAN cosmetic directive.
- European Commission (2022), Annexes II - List of substances prohibited in cosmetic products.
- Bộ Y tế (2021), Thông tư số 7/VBHN-BYT: Thông tư quy định về quản lý mỹ phẩm.
- BSI Standards Publication, (2011), BS ISO 12787:2011 - *Cosmetics - Analytical methods - Validation criteria for analytical results using chromatographic techniques*.
- ICH Topic Q2 (R1), (1995), *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology*.