TỐI ƯU HÓA PHƯƠNG PHÁP GC–MS/MS PHÂN TÍCH 2-MCPDE, 3-MCPDE VÀ GLYCIDYL ESTE TRONG MÌ ĂN LIỀN

LÊ ĐÌNH VŨ[1*], TRƯƠNG NGỌC QUYÊN[2]

[1]*Viện Khoa học Công nghệ và Quản lý môi trường*

Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh,

[2]*Trung tâm Kỹ thuật Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng 3*

** Tác giả liên hệ: ledinhvu@iuh.edu.vn*

DOIs: https://www.doi.org/10.46242/jstiuh.v80i2.5897

Tóm tắt. Các este 2-monochloropropane-1,3-diol (2-MCPDE), 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPDE) và glycidyl este (GE) là những chất sinh ra trong quá trình chế biến thực phẩm giàu chất béo ở nhiệt độ cao. Sau khi xâm nhập vào cơ thể, chúng có thể bị thủy phân tạo thành 2-MCPD, 3-MCPD và glycidol, đây là những hợp chất đã được cảnh báo về khả năng gây ung thư và độc tính đế sức khỏe. Trong nghiên cứu này, một quy trình phân tích bằng GC–MS/MS đã được xây dựng và tối ưu nhằm định lượng đồng thời 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE trong thực phẩm cụ thể là nền mẫu mì ăn liền. Các điều kiện tiền xử lý mẫu bao gồm khối lượng mẫu, quy trình chiết làm sạch, điều kiện brom hóa, phản ứng thủy phân và tạo dẫn xuất bằng PBA đã được khảo sát để tối ưu hiệu suất thu hồi và tăng độ nhạy phân tích với giới hạn phát hiện là 2 µg/kg, hiệu suất thu hồi từ 83.6 đến 111%. Quy trình tối ưu sau đó được áp dụng phân tích 18 mẫu mì ăn liền thương mại. Kết quả cho thấy cả ba hợp chất 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE đều được phát hiện trong 100% mẫu, với hàm lượng lần lượt từ 129–443 µg/kg, 116–224 µg/kg và 144–332 µg/kg. Một số mẫu có nồng độ vượt mức giới hạn tham chiếu được EU quy định cho sản phẩm dinh dưỡng trẻ nhỏ, cho thấy nguy cơ tiềm ẩn về an toàn thực phẩm. Quy trình phân tích được tối ưu trong nghiên cứu có thể ứng dụng trong hoạt động kiểm nghiệm và hỗ trợ công tác giám sát an toàn thực phẩm đối với các sản phẩm chế biến giàu chất béo.

Từ khóa: 2-MCPDE, 3-MCPDE, glycidyl este, GC-MS/MS, mì ăn liền, an toàn thực phẩm.

1. GIỚI THIỆU

Trong những năm gần đây, sự hiện diện của các chất gây độc trong thực phẩm, có nguồn gốc từ nguyên liệu hoặc hình thành trong quá trình chế biến, ngày càng trở thành mối quan ngại lớn do mối liên hệ trực tiếp của chúng với nhiều bệnh nghiêm trọng, bao gồm cả ung thư. Theo báo cáo năm 2020 của Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC), Việt Nam xếp thứ 16 trong số 185 quốc gia và vùng lãnh thổ tại khu vực châu Á về tỷ lệ mắc ung thư. IARC cũng nhấn mạnh rằng thói quen ăn uống tại các quốc gia đang phát triển, trong đó có Việt Nam, là một trong những yếu tố nguy cơ hàng đầu góp phần vào sự hình thành bệnh ung thư [1, 2]. Việc tiêu thụ thường xuyên các thực phẩm chế biến sẵn, thức ăn nhanh và các sản phẩm công nghiệp giàu chất béo có thể dẫn đến tích lũy các chất độc hại, không chỉ từ dư lượng hóa chất nông nghiệp hoặc chất ô nhiễm liên quan đến bao bì, mà còn từ các hợp chất độc sinh ra trong quá trình chế biến thực phẩm [3].

Trong số các hóa chất hình thành trong chế biến đáng quan tâm có 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD), glycidol và các este axit béo tương ứng của chúng (3-MCPDE và GE). Các hợp chất này đã được ghi nhận có khả năng gây ung thư và ảnh hưởng xấu đến hệ sinh sản qua các nghiên cứu độc tính [4–6]. Mặc dù thông tin về các este 2-monochloropropane-1,3-diol (2-MCPDE) còn hạn chế hơn, song sự tương đồng về cấu trúc với 3-MCPDE cho thấy chúng có thể có hành vi sinh học tương tự và cần được quan tâm ở mức độ tương đương. Các este này thường được hình thành khi dầu hoặc thực phẩm giàu chất béo tiếp xúc với nhiệt độ cao trong điều kiện có mặt ion chloride, vốn có thể tồn tại tự nhiên trong nguyên liệu hoặc được bổ sung trong quá trình chế biến [7–10]. Do đó, các loại thực phẩm như mì ăn liền, đồ chiên rán, sữa bột và các sản phẩm xử lý nhiệt khác là những nền mẫu có nguy cơ cao. Mặc dù vậy, dữ liệu về mức độ nhiễm các hợp chất này hiện vẫn chưa đầy đủ, mặc dù việc tiêu thụ thực phẩm chế biến giàu chất béo đang tăng lên trên toàn cầu và tại Việt Nam.

© 2026 Trường Đại học Công nghiệp Thành phố Hồ Chí Minh

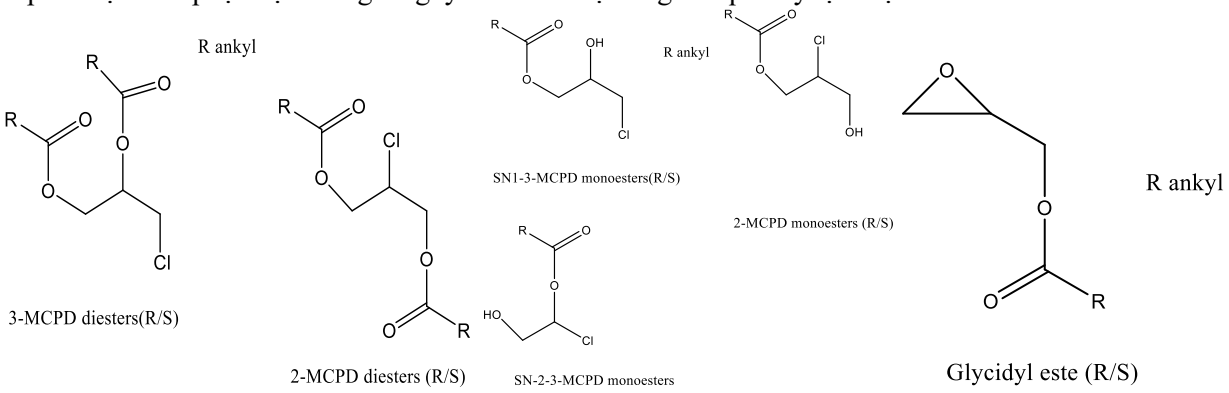
Các bằng chứng về độc động học cho thấy phần lớn 3-MCPDE được hấp thu vào cơ thể sẽ nhanh chóng bị thủy phân tạo thành 3-MCPD tự do, một hợp chất đã được chứng minh gây độc cho thận và ảnh hưởng đến hệ sinh sản nam [11]. Dựa trên dữ liệu cơ chế và nghiên cứu trên động vật, IARC đã xếp 3-MCPD vào nhóm 2B và glycidol vào nhóm 2A, phản ánh bằng chứng mạnh hơn về độc tính gen của glycidol [5,6,12]. Để quản lý rủi ro, Cơ quan An toàn Thực phẩm Châu Âu (EFSA) đã đề xuất mức dung nạp hàng ngày (TDI) là 2 µg/kg thể trọng/ngày đối với 3-MCPD và các este axit béo của nó [6].

Các nghiên cứu gần đây đã ghi nhận sự hiện diện đồng thời của 2-MCPDE, 3-MCPDE và glycidyl esters (GE) trong nhiều nền thực phẩm giàu chất béo, bao gồm dầu ăn tinh luyện, thực phẩm chiên rán, snack và mì ăn liền. Hàm lượng các hợp chất này trong thực phẩm chế biến thường dao động từ vài chục đến vài trăm µg/kg, trong khi ở dầu thực vật tinh luyện, hàm lượng 3-MCPDE và GE có thể đạt tới vài mg/kg. Hàm lượng các chất này phụ thuộc vào loại dầu và điều kiện xử lý nhiệt [10].

Việc xác định các chất gây ô nhiễm này đã được nghiên cứu rộng rãi, đặc biệt trong dầu ăn và thực phẩm chế biến. Các phương pháp hiện có thường thuộc hai nhóm chính: định lượng trực tiếp từng este và định lượng gián tiếp dựa trên việc chuyển hóa chúng thành các dạng tự do. Phương pháp trực tiếp thường yêu cầu bước tách phân đoạn este trước khi phân tích bằng GC–MS [13]. Ngược lại, phương pháp gián tiếp sử dụng thủy phân hóa học kết hợp với các bước dẫn xuất như halogen hóa và phản ứng với PBA hoặc HFBI chuyển dạng liên kết thành các dẫn xuất MCPD hoặc glycidol có thể đo được [4]. Mỗi phương pháp đều có ưu và nhược điểm tùy thuộc vào độ phức tạp nền mẫu và mục tiêu phân tích.

Tại Việt Nam, các phòng thí nghiệm chủ yếu dựa vào TCVN 12081-1:2017 cho mỡ động vật và AOAC 2018.03 cho nền mẫu sữa [14,15]. Tuy nhiên, hiện chưa có phương pháp đã được thẩm định dành cho các thực phẩm chế biến giàu chất béo phức tạp như mì ăn liền hoặc đồ chiên rán. Khoảng trống phương pháp hiện nay hạn chế khả năng giám sát của các cơ quan quản lý và nhà sản xuất. Do đó, việc xây dựng một phương pháp phân tích có độ tin cậy cao, được thẩm định đầy đủ và phù hợp với các nền mẫu này là cần thiết nhằm phục vụ công tác đánh giá an toàn thực phẩm và bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

Do vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm xây dựng và tối ưu quy trình phân tích 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE trong mì ăn liền, dựa trên các khuyến nghị phương pháp của AOAC 2018.03 và các báo cáo kỹ thuật của EFSA [15,16]. Việc tối ưu tập trung vào các thông số thiết bị và khối phổ, khối lượng mẫu, quy trình chiết tách – làm sạch, cùng các yếu tố then chốt ảnh hưởng đến hiệu suất phát hiện. Phương pháp sau khi thẩm định được áp dụng trên mẫu thực tế để xác định mức độ ô nhiễm, qua đó cung cấp dữ liệu mới phục vụ đánh giá nguy cơ và hỗ trợ công tác quản lý tại Việt Nam.



Hình 1. Công thức cấu tạo của các 2-MCPDE, 3-MCPDE và glycidyl esters (GE)

2. THỰC NGHIỆM

2.1 Hóa chất và chất chuẩn

Rac-1,2-Bis-palmitoyl-3-chloropropanediol (PP-3-MCPD), 1,3-Dipalmitoyl-2-chloropropanediol (PP-2-MCPD), glycidyl palmitate và các chất tương tự được gắn đồng vị của chúng gồm PP-3-MCPD-d5, PP-2-MCPD-d5 và glycidyl palmitate-d5 (độ tinh khiết ≥ 98%, riêng Gly-P-d5 ≥ 97%) được cung cấp bởi Sigma-Aldrich (Singapore). Tetrahydrofuran (THF), methanol, toluene, ethyl acetate, sodium bromide và sulfuric acid (≥ 99%) được mua từ Merck (Darmstadt, Đức). Các cartridge SPE làm sạch dạng phân tán NH_2 loại 2

mL (silica liên kết aminopropyl), Supelclean™ LC-NH_2, cũng được cung cấp bởi Merck. Tất cả các hóa chất khác sử dụng trong nghiên cứu này đều đạt cấp độ phân tích.

Dung dịch chuẩn và nội chuẩn gốc (1000 mg/L) được pha từ chuẩn tinh khiết dạng este bằng toluen sau đó quy đổi về dạng ancol tương ứng. Các dung dịch chuẩn và nội chuẩn trung gian 5,0 mg/L, 1,0 mg/L và 0,1 mg/L được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc bằng toluen. Đường hiệu chuẩn được xây dựng từ các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 5µg/L, 30 µg/L, 100 µg/L, 300 µg/L và 1000 µg/L trên nền mẫu trắng là dầu olive.

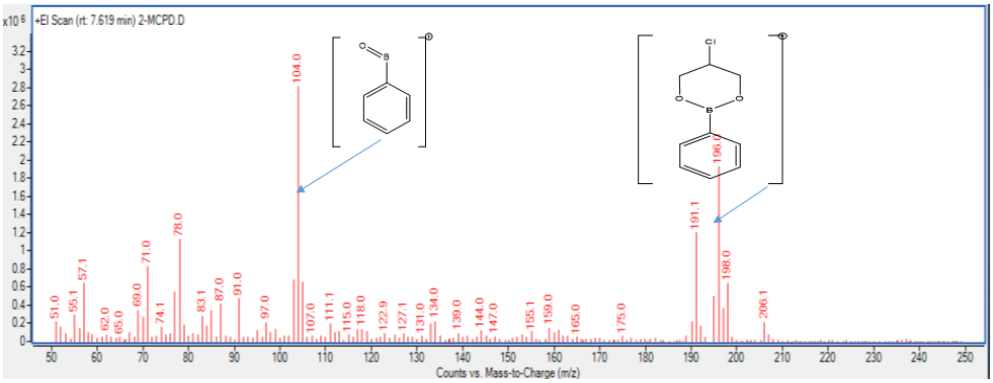
2.2 Thiết bị

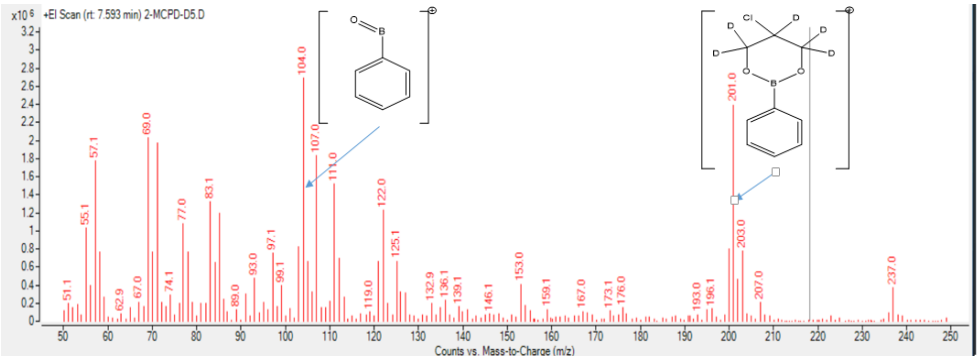
Hệ thống sắc ký khí được sử dụng trong nghiên cứu này là hệ thống Agilent 8890 GC (Hoa Kỳ), được trang bị cột Agilent J&W DB-5MS UI (20 m × 0,18 mm, 0,18 µm; mã p/n 121-5522UI). Chương trình nhiệt áp dụng cho phân tích sắc ký như sau: 60 °C (1 phút); tăng 20 °C/phút đến 160 °C (giữ 3 phút); sau đó tăng 40 °C/phút đến 300 °C (giữ 4 phút). Hệ thống khối phổ ba tứ cực được sử dụng là Agilent 7000D Triple Quadrupole (Agilent Technologies, Hoa Kỳ), vận hành ở chế độ ion hóa va chạm electron (EI+).

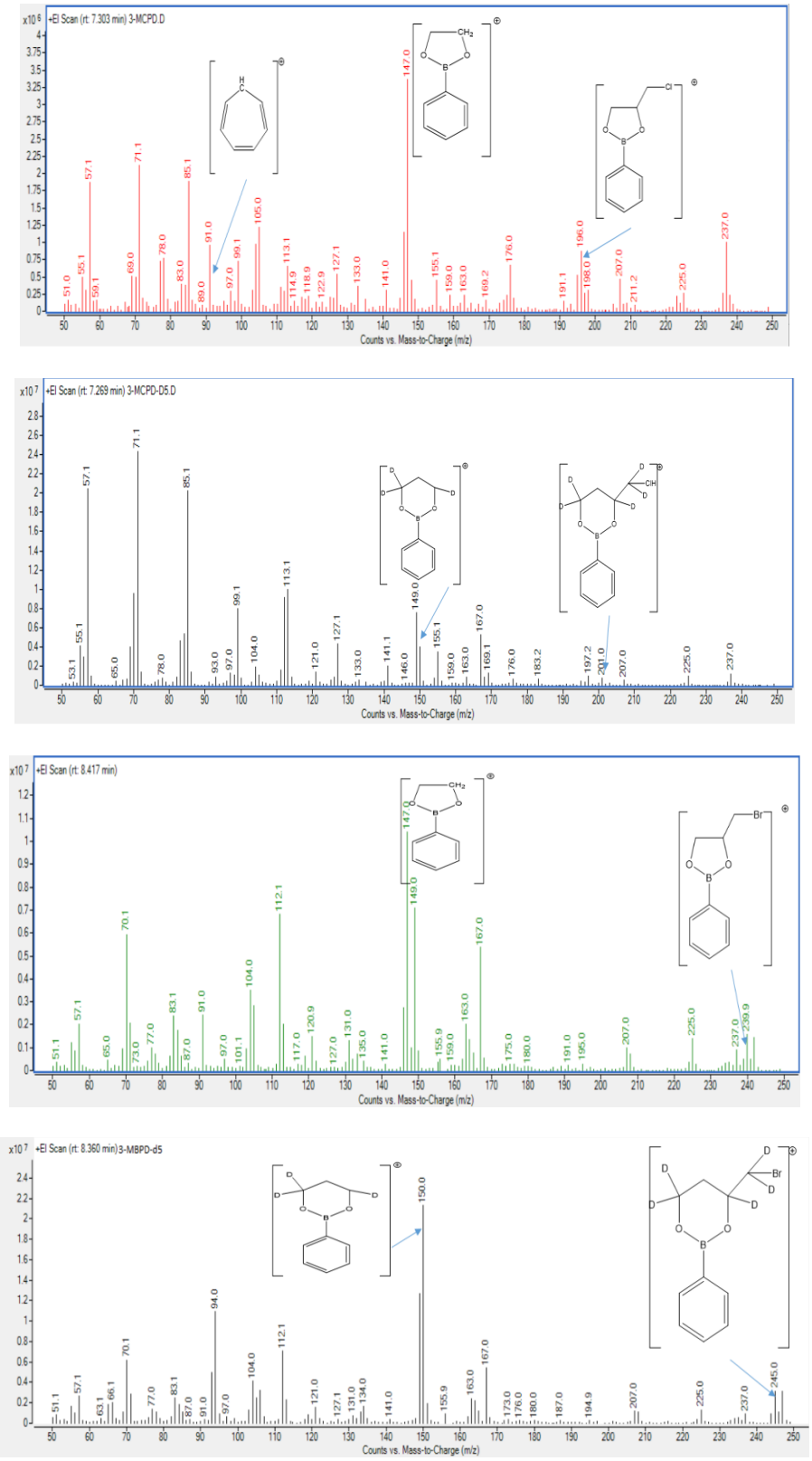
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1 Điều kiện khối phổ

Dung dịch chuẩn đơn của các chất 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE được pha ở nồng độ 1,0 µg/mL. Các dung dịch chuẩn này sau đó được xử lý qua các bước chuyển hóa từ dạng este về dạng ancol và tạo dẫn xuất với PBA. Ở giai đoạn tối ưu khối phổ, chúng tôi vận hành thiết bị ở chế độ quét (scan) đối với hệ thống khối phổ ba tứ cực bằng nguồn ion hóa EI, năng lượng ion hóa 70 eV, MS được sử dụng ở chế độ MRM để xác định ion mẹ của từng chất, sau đó tinh chỉnh các mức điện thế dựa trên tài liệu tham khảo nhằm lựa chọn được các ion con đặc trưng. Quy trình tương tự cũng được áp dụng cho các nội chuẩn đồng vị. Phổ khối của 2-MCPD, 3-MCPD, 3-MBPD và các nội chuẩn đồng vị tương ứng được thể hiện chi tiết trong Hình 2. Danh sách ion mẹ, ion con và các mức điện thế phân mảnh tối ưu được trình bày trong Bảng 1.







Hình 2. Khối phổ dạng full scan của các chất chuẩn sau khi tạo dẫn xuất với PBA: (a) dẫn xuất 2-MCPD, (b) dẫn xuất 2-MCPD-d5, (c) dẫn xuất của 3-MCPD, (d) dẫn xuất của 3-MCPD-d5, (e) dẫn xuất của 3-MBPD, (f) dẫn xuất 3-MBPD-d5

Bảng 1. Mảnh phổ ion sơ cấp và thứ cấp đặc trưng và năng lượng phân mảnh của các dẫn xuất chất chuẩn và nội chuẩn với PBA, dấu (*) là các ion định lượng có cường độ lớn dùng để định lượng cho phương pháp

STT	Hợp chất dẫn xuất với PBA	Ion mẹ (m/z)	Ion con (m/z)	Năng lượng bắn phá (V)
1	3-MCPD	196,2	147,1*	5
		147,0	91,0	20
2	3-MCPD-d5	150,0	93,0*	20
		201,0	150,0	5
3	2-MCPD	196,2	104,1*	15
		198,2	104,1	15
4	2-MCPD-d5	201,1	104,1*	25
		201,1	107,1	15
5	3-MBPD	240,0	147,*	5
		147,0	91,0	15
6	3-MBPD-d5	150,0	93,0*	15
		245,0	149,1	15

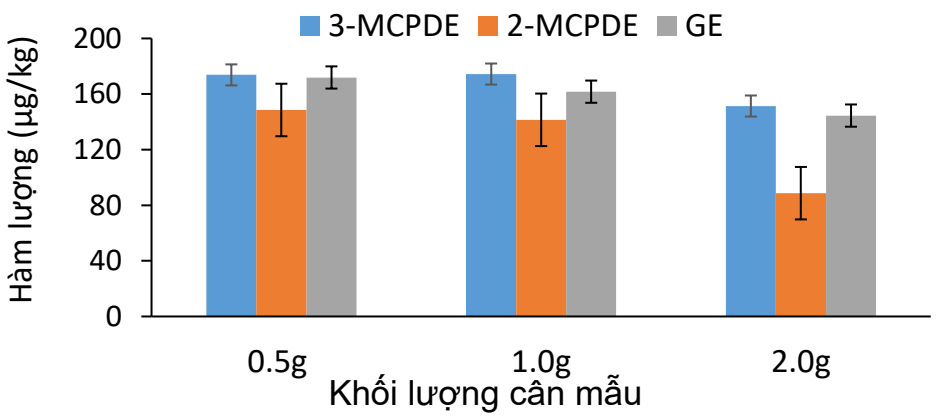
Kết quả khối phổ của tất cả các chất chuẩn và nội chuẩn detơri hóa đều cho số lượng IP từ 4-5, đáp ứng quy định của 2002/65/EC với IP=4 đối với nhóm chất phân tích bằng khối phổ song song.

3.2 Tối ưu hóa quy trình xử lý mẫu

3.2.1 Tối ưu khối lượng mẫu

Vì MCPDE và GE chủ yếu được hình thành trong các sản phẩm giàu chất béo và chịu xử lý nhiệt, khối lượng mẫu cân ban đầu đóng vai trò quan trọng trong việc tối ưu hóa quá trình chiết béo và thu hồi chất phân tích, đồng thời đảm bảo thu được lượng lipid đủ để đạt giới hạn phát hiện phù hợp. Theo AOAC 2018.03, khối lượng mẫu cần thiết được xác định dựa trên hàm lượng chất béo của nền mẫu: đối với sữa bột chứa khoảng 20–30% béo, lượng mẫu khuyến nghị là 0,5 g; với sữa lỏng có hàm lượng béo 3–5%, cần cân khoảng 3,0 g; còn các sản phẩm sữa có hàm lượng chất béo 6–12% thường sử dụng khoảng 1,5 g mẫu.

Đối với nền mẫu như mì gói, vốn có hàm lượng chất béo khoảng 10–20%, chúng tôi tiến hành khảo sát ảnh hưởng của khối lượng mẫu cân bằng cách thử nghiệm ba mức: 0,5 g, 1,0 g và 2,0 g. Ở mỗi mức khối lượng, mẫu được xử lý theo quy trình tham khảo và hàm lượng các MCPDE và GE được ghi nhận. Kết quả thu được được so sánh nhằm đánh giá tác động của lượng mẫu đến hiệu suất thu hồi và độ tin cậy của phép phân tích. Giá trị hiệu suất thu hồi được như Hình 3



Hình 3. Mối liên hệ giữa lượng mẫu và hàm lượng các MCPDE, GE trên nền mì gói

Kết quả ở Hình 3 cho thấy lượng mẫu cân có ảnh hưởng rõ rệt đến hàm lượng MCPDE và GE thu được từ quá trình phân tích. Khi sử dụng 0,5 g và 1,0 g mẫu, nồng độ các chất phân tích hầu như không thay đổi, cho thấy hiệu suất chiết tương đối ổn định ở hai mức này. Tuy nhiên, khi tăng lên 2,0 g, tín hiệu phân tích lại giảm đáng kể. Hiện tượng suy giảm này có thể được giải thích bởi đặc tính của nền mì gói, vốn chứa hàm lượng tinh bột cao và có khả năng tạo nhũ tương mạnh khi tiếp xúc với ethyl acetate trong điều kiện tỷ lệ mẫu lớn so với thể tích dung môi.

Nhũ tương hình thành làm cản trở quá trình tách pha, dẫn đến giảm khả năng thu hồi lipid và các este cần phân tích. Hơn nữa, lượng mẫu lớn khiến độ nhớt của hỗn hợp tăng, làm hạn chế sự tiếp xúc hiệu quả giữa dung môi và pha mẫu. Mặc dù có thể khắc phục bằng cách tăng số lần chiết hoặc bổ sung thêm dung môi, các biện pháp này lại làm kéo dài thời gian xử lý và gia tăng lượng hóa chất tiêu thụ, không phù hợp với mục tiêu xây dựng quy trình tối ưu, hiệu quả và khả thi trong phân tích thường quy.

Do đó, khối lượng mẫu 1,0 g được xem là tối ưu cho nền mì gói. Mức này vừa đảm bảo thu được hàm lượng MCPDE và GE ổn định, vừa hạn chế được các vấn đề liên quan đến nhũ tương và giảm thiểu nhiễu do nền mẫu , qua đó cải thiện độ tin cậy của phép đo.

3.2.2 Tối ưu quá trình brom hóa GE

Phản ứng mở vòng epoxit của GE diễn ra khi tác nhân nucleophile tấn công vào một trong hai nguyên tử carbon của epoxit. Mặc dù cơ chế này có thể xảy ra trong môi trường kiềm hoặc trung tính, sự có mặt của axit thường làm tăng đáng kể tốc độ phản ứng do sự hoạt hóa epoxit thông qua dạng axit liên hợp. Tuy nhiên, điều kiện axit mạnh cũng có thể thúc đẩy hình thành mới các hợp chất halogen hóa, chẳng hạn như 3-MCPD, thông qua phản ứng giữa acylglycerol và ion halogen. Điều này cho thấy nồng độ H_2SO_4 là yếu tố cần được kiểm soát chặt chẽ để cân bằng giữa hiệu suất chuyển GE thành 3-MBPD và hạn chế tạo sản phẩm phụ không mong muốn.

Đối với ảnh hưởng của nồng độ H_2SO_4, kết quả ở Hình 4a cho thấy tỷ lệ tín hiệu chuẩn/nội chuẩn của GE đạt giá trị cao nhất tại mức 5%. Ở nồng độ 7%, tỷ lệ này gần như không tăng thêm, biểu hiện xu hướng bão hòa, trong khi mức 1% cho tín hiệu thấp nhất. Điều này cho thấy nồng độ axit quá thấp không đủ để hoạt hóa vòng epoxit của GE, làm giảm hiệu suất chuyển hóa sang 3-MBPD. Ngược lại, khi nồng độ axit tăng cao hơn 5%, lợi ích phản ứng không còn rõ rệt, có thể do phản ứng cạnh tranh hoặc sự hình thành các sản phẩm phụ. Vì vậy, nồng độ H_2SO_4 ở mức 5% được xem là tối ưu để thúc đẩy phản ứng brom hóa và tạo tín hiệu 3-MBPD mạnh nhất.

Vai trò của brom cũng mang tính quyết định, vì nồng độ quá thấp dẫn đến chuyển hóa không hoàn toàn, trong khi nồng độ quá cao có nguy cơ tạo tín hiệu dương giả do brom phản ứng với lượng acylglycerol còn lại trong mẫu. Tối ưu hóa nồng độ brom vì vậy ảnh hưởng trực tiếp đến độ chính xác của phép định lượng GE.

Kết quả ở Hình 4b cho thấy tỷ lệ diện tích peak chuẩn/nội chuẩn của GE đạt mức ổn định trong khoảng 0,3–0,7%, phản ánh rằng lượng NaBr trong khoảng này đủ để phản ứng hoàn toàn với vòng epoxit của GE. Sự tương đồng này cho thấy khi nồng độ NaBr vượt qua một ngưỡng tối thiểu nhất định, tốc độ và hiệu suất phản ứng brom hóa không còn bị giới hạn bởi chất phản ứng. Ngược lại, ở mức 0,1%, tỷ lệ chuẩn/nội chuẩn thấp hơn rõ rệt, cho thấy bromide không đủ để mở vòng epoxit hoàn toàn, dẫn đến giảm lượng 3-MBPD hình thành và làm suy giảm tín hiệu phân tích.

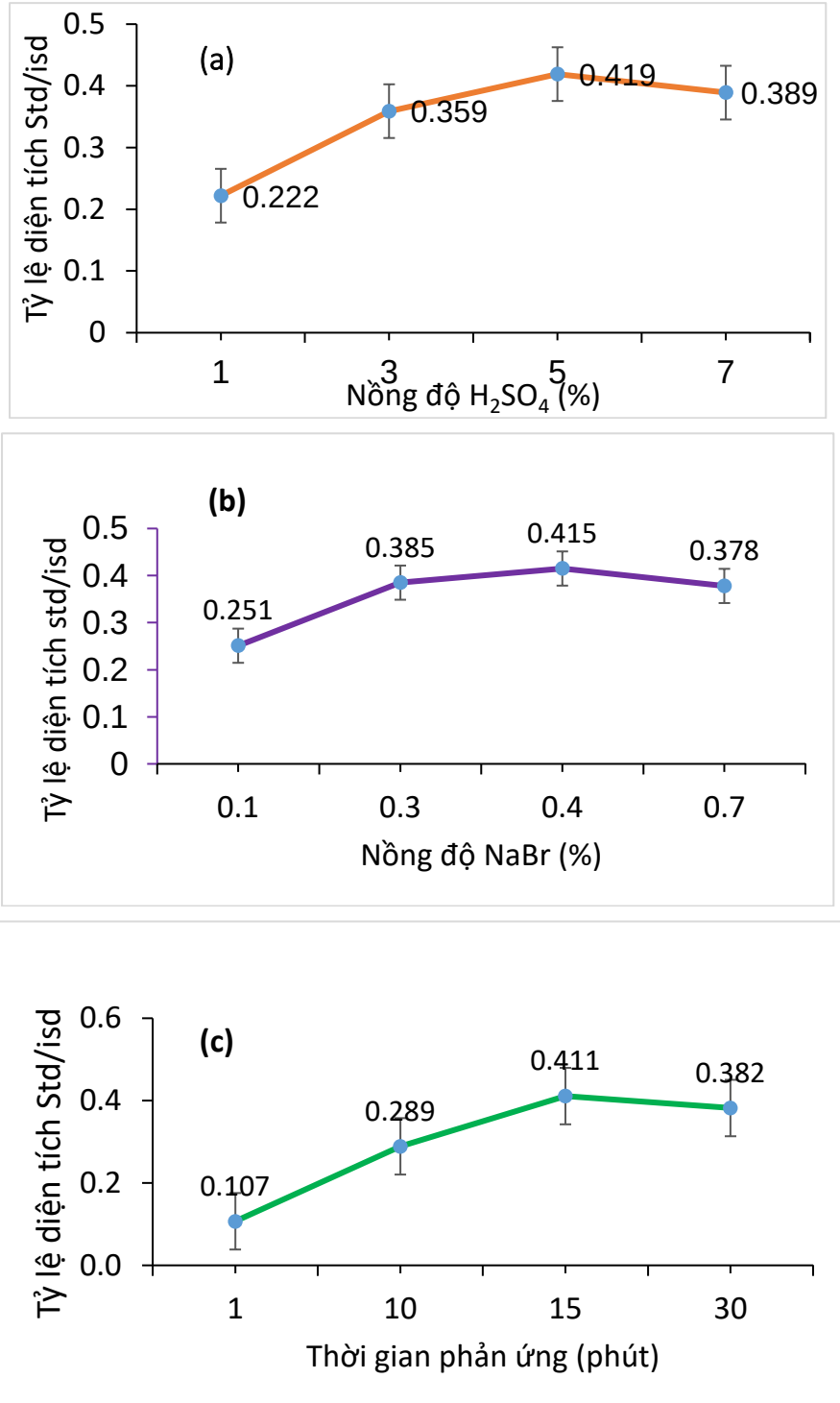
Mặc dù tín hiệu không tăng đáng kể khi nồng độ NaBr vượt quá 0,3%, việc sử dụng nồng độ bromide quá cao lại không được khuyến khích trong điều kiện phân tích thực tế. Nguyên nhân là brom có thể tiếp tục phản ứng với acylglycerol còn tồn dư trong mẫu đặc biệt với những nền thực phẩm giàu chất béo dẫn đến tăng tín hiệu giả dương, từ đó gây sai lệch định lượng GE. Điều này càng đáng lưu ý khi nền mẫu không được loại bỏ hoàn toàn lipid hoặc acylglycerol trong các bước chiết, làm sạch.

Do vậy, việc lựa chọn nồng độ NaBr cần cân bằng giữa hiệu suất phản ứng và nguy cơ tạo tín hiệu phụ không mong muốn. Trong nghiên cứu này, nồng độ 0,4% được xem là tối ưu vì vừa đảm bảo lượng brom đủ để chuyển hóa hoàn toàn GE, vừa hạn chế các tương tác thứ cấp với acylglycerol, qua đó đảm bảo tính chính xác của phép đo 3-MBPD trong điều kiện mẫu thực tế.

Thời gian phản ứng cũng được xem xét nhằm đánh giá động học hình thành và độ ổn định của 3-MBPD ở các mốc ngắn và dài hơn điều kiện thông thường. Những quan sát này giúp xác định khoảng thời gian phản ứng phù hợp nhất để tối đa hóa tín hiệu phân tích đồng thời hạn chế biến đổi trong quá trình xử lý mẫu.

Kết quả khảo sát ở các thời gian phản ứng là 1, 10, 15, 30 phút, tại nhiệt độ 50 ^{o}C, chúng tôi nhận thấy ở 1 phút thì tỷ lệ diện tích peak chuẩn/nội chuẩn GE là nhỏ nhất và nhỏ hơn 3 lần so với mức cao nhất, cho

thấy chưa đủ thời gian để phản ứng brom hóa xảy ra hoàn toàn. Trong khoảng thời gian từ 10-15 phút, tỷ lệ tăng và đạt cao nhất ở 15 phút, trong khoảng 15-30 phút tỷ lệ này có sự giảm nhẹ. Như vậy thời gian brom hóa chúng tôi chọn là 15 phút, đủ thời gian để phản ứng diễn ra hoàn toàn đồng thời tiết kiệm thời gian xử lý mẫu (Hình 4c).



Hình 4. Ảnh hưởng của nồng độ H_2SO_4 (a), nồng độ NaBr (b) và thời gian phản ứng (c) đến tỷ lệ chuẩn/nội chuẩn GE ở giai đoạn brom hóa

3.2.3 Tối ưu nồng độ PBA đến phản ứng tạo dẫn xuất

PBA được lựa chọn làm thuốc thử tạo dẫn xuất cho 2- và 3-MCPD do có độ nhạy cao và tính chọn lọc đối với các hợp chất chứa nhóm diol. Tuy nhiên, lượng PBA quá lớn có thể dẫn đến hình thành triphenylboroxin, gây lắng cặn và ảnh hưởng đến hệ thống GC. Vì vậy, lượng PBA được khảo sát ở ba mức 2%, 4% và 6% bằng cách sử dụng chuẩn hỗn hợp 1,0 µg/mL nhằm xác định nồng độ tối ưu cho phản ứng dẫn xuất.

Kết quả trong Bảng 2 cho thấy việc thay đổi nồng độ PBA ảnh hưởng đến tín hiệu phân tích, nhưng mức độ thay đổi không đồng nhất giữa diện tích peak của chuẩn và nội chuẩn. Ở nồng độ 2% và 4%, diện tích peak của chuẩn gần như tương đương nhau, phản ánh rằng lượng PBA tại hai mức này đã đủ để đảm bảo phản ứng tạo dẫn xuất diễn ra hoàn toàn. Ngược lại, ở nồng độ 6%, diện tích peak của cả chuẩn và nội chuẩn tăng đáng kể; tuy nhiên, tỷ lệ chuẩn/nội chuẩn lại không thay đổi tương ứng, gợi ý rằng sự gia tăng tín hiệu có thể xuất phát từ hiệu ứng nền hoặc hiện tượng tăng tín hiệu đồng loạt thay vì cải thiện thực sự hiệu suất dẫn xuất.

Bảng 2. Ảnh hưởng của nồng độ PBA đến tín hiệu phân tích

Nồng độ PBA (%)	2-MCPDE (n=3)			3-MCPDE (n=3)			GE (n=3)		
	S chuẩn	Diện tích nội chuẩn	tỷ lệ	Diện tích chuẩn	Diện tích nội chuẩn	Tỷ lệ	Diện tích chuẩn	Diện tích nội chuẩn	Tỷ lệ
2 %	526442	12868	40.9	363924	11579	31	572260	133269	4.29
4 %	552506	12841	43.8	384566	12632	30	461361	109607	4.21
6 %	1152341	25873	44.5	762893	26090	29	1230488	286440	4.30

Trong khi đó, nồng độ 4% đáp ứng tốt cả hai yêu cầu: (i) đảm bảo lượng PBA dư đủ cho phản ứng dẫn xuất các hợp chất chứa nhóm diol, và (ii) tránh hiện tượng dư thừa PBA dẫn đến kết tinh hoặc hình thành sản phẩm phụ không mong muốn. Hơn nữa, đối với các mẫu có hàm lượng chất phân tích cao, việc điều chỉnh khối lượng mẫu cân hoặc áp dụng pha loãng trước khi tạo dẫn xuất cho phép tiếp tục duy trì mức PBA 4% mà không ảnh hưởng đến hiệu quả phản ứng.

Vì những lý do trên, nồng độ PBA 4% được xác định là tối ưu trong nghiên cứu này, đảm bảo độ nhạy phân tích đồng thời duy trì vận hành ổn định và bền vững của hệ thống GC.

3.2.3 Quy trình xử lý mẫu tối ưu

Mẫu mì ăn liền được cân khoảng 1,0 g (± 0,001g) và được bổ sung 50 µL dung dịch nội chuẩn 1,0 µg/L. Quá trình chiết béo được thực hiện bằng cách thêm 10 mL nước và 12 mL ethyl acetate, sau đó mẫu được ủ ở 50 °C trong 15 phút, lắc 15 phút và ly tâm 10 phút. Tiếp theo, 10 g Na_2SO_4 được bổ sung, hỗn hợp được lắc trong 3 phút và ly tâm lại trước khi lớp ethyl acetate được thu và thổi khô ở 40 °C đến còn giọt dầu. Quá trình chiết được lặp lại với 10 mL ethyl acetate, và hai dịch chiết được gộp trước khi làm khô.

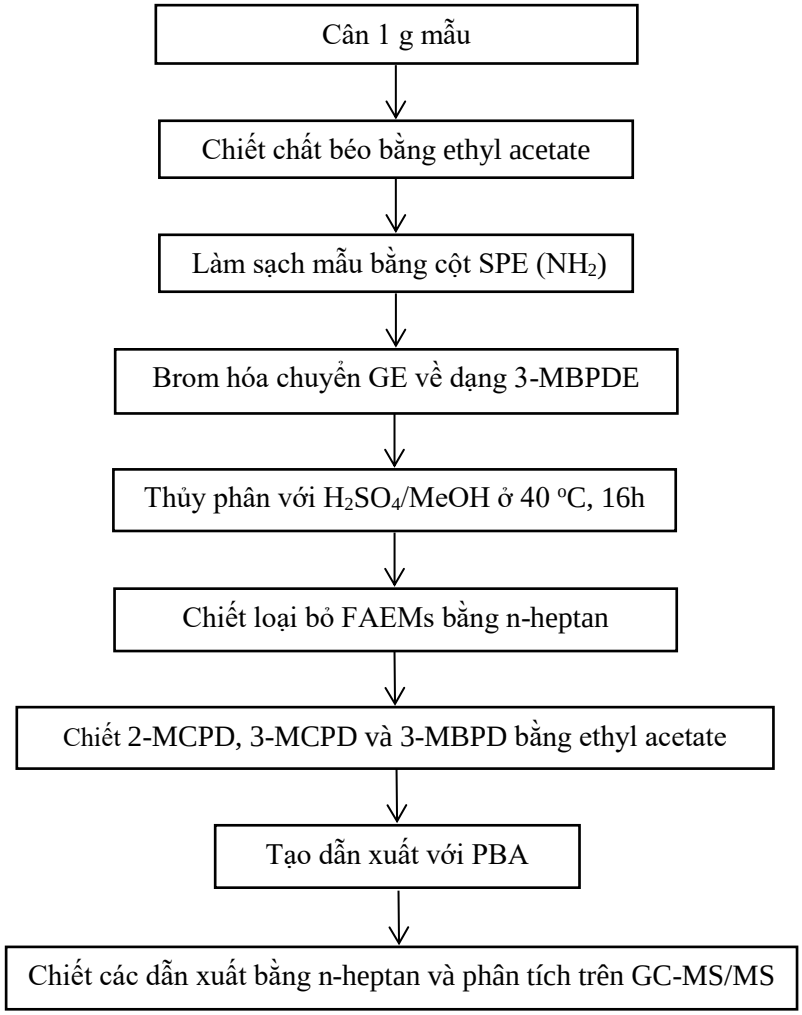
Cặn thu được được hòa tan trong 1 mL n-hexane: ethyl acetate (85:15, v/v) và làm sạch qua cột SPE–NH_2 đã được hoạt hóa bằng 2 mL cùng dung môi. Mẫu được tải lên cột và rửa bằng 10 mL dung môi, sau đó dịch chiết được thu và thổi khô ở 40 °C.

Phản ứng brom hóa được tiến hành bằng cách hòa tan cặn trong 2,0 mL THF, thêm 30 µL dung dịch NaBr 0,4% trong H_2SO_4 5% và ủ ở 50 ± 5 °C trong 15 phút. Phản ứng được dừng bằng 3 mL $NaHCO_3$ 0,6%, mẫu được chiết với 2 mL n-heptane, ly tâm và lớp hữu cơ được thu, sau đó được thổi khô ở 40 °C.

Tiếp theo, cặn được hòa tan trong 1 mL THF, thêm 1,8 mL methanol chứa 1,8% H_2SO_4 và ủ ở 40 °C trong 16–20 giờ để methyl ester hóa. Phản ứng được dừng bằng 0,5 mL $NaHCO_3$ bão hòa, hỗn hợp được vortex trong 10 giây và dung môi được thổi khô đến còn khoảng 1 mL. Sau đó, 2 mL Na_2SO_4 20% được thêm vào, và methyl ester axit béo được loại bỏ bằng hai lần chiết với 2 mL n-heptane.

Pha dưới sau khi loại n-heptane được chiết hai lần bằng 2 mL ethyl acetate; hai dịch chiết được gộp và dẫn xuất được tạo bằng 150 µL PBA 4% trong 5 phút bằng siêu âm. Cuối cùng, dung dịch được thổi khô nhẹ bằng N_2 ở 40 °C, hòa tan lại trong 1 mL n-heptane, ly tâm và lớp hữu cơ được chuyển vào vial để phân tích bằng GC–MS/MS. Quy trình xử lý mẫu được tóm tắt như trong Hình 5.

3.2.3 Thông số thẩm định của phương pháp



Hình 5. Quy trình xử lý mẫu phân tích 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE trong mì ăn liền

Để đảm bảo độ tin cậy của phương pháp phân tích sau khi tối ưu, các thông số thẩm định về giới hạn phát hiện, độ lặp và hiệu suất thu hồi được đánh giá trên nền mẫu, các thông số thu được đều đạt theo yêu cầu đối với phương pháp phân tích định lượng của AOAC, kết quả được tổng hợp như trong Bảng 3.

Bảng 3: Thông số thẩm định giá trị sử dụng của phương pháp

Thông số	2-MCPDE	3-MCPDE	GE
Khoảng tuyến tính (µg/L)	2 - 5000	2 - 5000	2 - 5000
Hệ số tương quan, R^2	0,9999	0,9986	0,9989
Giới hạn phát hiện của phương pháp (µg /kg)	1,83	1,85	1,63
Độ lặp RSD_r (%)	4,84	6,82	7,56
Độ tái lặp nội bộ RSD_R (%)	5,00	7,04	10,40
Độ thu hồi (%)	83,6 - 96,0	85,6 - 101	83,8 - 110

Phương pháp được ứng dụng thực hiện thử nghiệm thành thạo trên mẫu mẫu dầu thực vật và cho kết quả Z-score tương ứng với 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE lần lượt là -0,1, 1,7 và 0,2. Kết quả này đảm bảo độ tin cậy cao khi thực hiện áp dụng phân tích hàm lượng các chất phân tích trên các nền mẫu tương tự.

3.3. Ứng dụng phương pháp phân tích mẫu mì ăn liền

Kết quả phân tích 18 mẫu mì ăn liền được lấy từ ba nhà sản xuất, mỗi sản phẩm lấy hai đơn vị sản phẩm ở hai ngày sản xuất khác nhau (Bảng 3) cho thấy cả 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE đều được phát hiện trong tất cả các mẫu khảo sát, với hàm lượng biến động đáng kể giữa các sản phẩm. Cụ thể, 2-MCPDE xuất hiện trong khoảng 129–443 µg/kg, 3-MCPDE trong khoảng 116–224 µg/kg và GE trong khoảng 144–332 µg/kg. Sự hiện diện phổ biến của các este này phù hợp với các nghiên cứu trước đây, vốn chỉ ra rằng quá trình chiên ngập dầu và đặc tính giàu lipid của sản phẩm là các yếu tố thúc đẩy mạnh sự hình thành MCPDE và GE [7, 10].

So sánh với dữ liệu công bố gần đây, hàm lượng phát hiện trong nghiên cứu này có xu hướng cao hơn một số báo cáo tại Châu Âu và Nhật Bản, nơi giá trị GE thường <100 µg/kg và MCPDE <200 µg/kg trong mì ăn liền [16, 17]. Những khác biệt này có thể bắt nguồn từ loại dầu sử dụng (đặc biệt là dầu cọ tinh luyện), mức độ oxy hóa của dầu trong các lần tái sử dụng, điều kiện chiên (nhiệt độ–thời gian), hoặc công thức sản phẩm khác nhau giữa các nhà sản xuất [12,18]. Việc phát hiện hàm lượng GE lên đến 308 µg/kg còn cho thấy các điều kiện chế biến ở nhiệt độ cao có thể làm gia tăng phản ứng nội phân tử giữa acylglycerol và các ion halogen, vốn được mô tả là cơ chế hình thành chính của hợp chất này [5,6,12].

Về mặt quản lý, Liên minh châu Âu đã thiết lập giới hạn tối đa cho 3-MCPDE + 3-MCPD (125 µg/kg) và GE (50 µg/kg) đối với sữa công thức và sản phẩm dinh dưỡng cho trẻ nhỏ [15]. Mặc dù chưa có giới hạn chính thức dành cho thực phẩm chế biến, các mức tham chiếu này vẫn cung cấp cơ sở so sánh hữu ích. Khi đối chiếu với các ngưỡng trên, phần lớn mẫu mì ăn liền trong nghiên cứu đều vượt mức, ngoại trừ một số sản phẩm không qua chiên. Kết quả này nhất quán với các báo cáo cho thấy rằng chiên ngập dầu đặc biệt khi dầu được sử dụng nhiều lần là nguồn đóng góp chính cho sự hình thành MCPDE và GE [10, 19].

Những phát hiện trên không chỉ phản ánh các thách thức trong quy trình công nghệ của ngành sản xuất mì ăn liền mà còn nhấn mạnh nhu cầu đánh giá rủi ro sức khỏe đối với nhóm thực phẩm này, nhất là ở các quốc gia có mức tiêu thụ cao. Trong bối cảnh hiện chưa có quy định giới hạn cho nhiều loại thực phẩm chế biến tại Việt Nam, dữ liệu này có thể hỗ trợ cơ quan quản lý trong việc xây dựng mức giới hạn phù hợp, đồng thời khuyến khích các doanh nghiệp xem xét cải thiện công nghệ chiên và chất lượng dầu sử dụng nhằm giảm thiểu các hợp chất gây lo ngại [15, 20]

Bảng 04. Kết quả áp dụng phương pháp phân tích trên mẫu thật

STT	Kí hiệu	3-MCPDE (µg/kg)	2-MCPDE (µg/kg)	GE (µg/kg)
1	A11	205	116	289
2	A12	251	176	170
3	A21	212	158	325
4	A22	188	162	332
5	A31	156	126	144
6	A32	129	124	195
7	B11	330	181	216
8	B12	228	158	213
9	B21	408	224	205
10	B22	320	190	213
11	B31	396	191	248
12	B32	443	216	156
13	C11	443	154	308

STT	Kí hiệu	3-MCPDE (µg/kg)	2-MCPDE (µg/kg)	GE (µg/kg)
14	C12	456	160	271
15	C21	371	113	323
16	C22	354	203	240
17	C31	280	183	241
18	C32	307	205	192

4. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, một quy trình phân tích bằng GC–MS/MS đã được xây dựng, tối ưu thành công nhằm định lượng đồng thời 2-MCPDE, 3-MCPDE và glycidyl este trong mì ăn liền. Các thông số quan trọng trong chuẩn bị mẫu, bao gồm khối lượng mẫu, hiệu suất chiết làm sạch, điều kiện brom hóa, thủy phân và tạo dẫn xuất PBA đã được khảo sát hệ thống, từ đó nâng cao độ nhạy, độ chính xác và tính ổn định của phương pháp. Quy trình tối ưu thu được cho thấy khả năng áp dụng tốt đối với các nền thực phẩm chế biến giàu chất béo. Khi áp dụng phương pháp cho 18 mẫu mì ăn liền thương mại, cả 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE đều được phát hiện ở tất cả các mẫu, với mức hàm lượng dao động đáng kể giữa các thương hiệu. Một số mẫu có hàm lượng 2-MCPDE, 3-MCPDE và GE vượt mức giới hạn tham chiếu mà Liên minh châu Âu quy định cho sữa công thức và dầu thực vật, cho thấy ảnh hưởng của quá trình chiên dầu và chất lượng dầu sử dụng trong sản xuất đối với sự hình thành các hợp chất này. Những kết quả này cung cấp dữ liệu quan trọng phục vụ đánh giá rủi ro an toàn thực phẩm, đồng thời nhấn mạnh nhu cầu giám sát thường xuyên các este chloropropanol và glycidyl trong các sản phẩm giàu chất béo. Quy trình phân tích được phát triển có thể được ứng dụng trong hoạt động kiểm nghiệm và hỗ trợ cơ quan quản lý xây dựng các hướng dẫn phù hợp nhằm bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] L. Châu, "Báo động tỷ lệ mắc ung thư tại Việt Nam." Internet: https://thanhnien.vn/bao-dong-ty-le-mac-ung-thu-tai-viet-nam-18524110819313936 4.htm, accessed Mar. 30, 2025.

[2] World Health Organization (2024). Global cancer burden growing, amidst mounting need for services. 1 February 2024. Available online: https://www.who.int/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services.

[3] C. Li, C. Li, H. Yu, Y. Cheng, Y. Xie, W. Yao, Y. Guo, and H. Qian, "Chemical food contaminants during food processing: sources and control," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 61, no. 9, pp. 1545–1555, 2021.

[4] C. Crews, A. Chiodini, M. Granvogl, C. Hamlet, K. Hrnčiřík, J. Kuhlmann, and W. Seefelder, "Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives," *Food Additives and Contaminants: Part A*, vol. 30, no. 1, pp. 11–45, Apr. 2013.

[5] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, "3-Monochloro-1,2-propanediol," *Some Chemicals Present in Industrial and Consumer Products, Food and Drinking-Water*, International Agency for Research on Cancer.

[6] K. Knott, "MCPD and glycidyl esters in the food chain," *EFSA Journal*, 2018.

[7] F. Destaillats, B. D. Craft, M. Dubois, and K. Nagy, "Glycidyl esters in refined palm (Elaeis guineensis) oil and related fractions. Part I: Formation mechanism," *Food Additives and Contaminants*, vol. 29, no. 1, pp. 29–30, Jan. 2012.

[8] P. D. Collier, D. D. O. Cromie, and A. P. Davies, "Mechanism of formation of chloropropanols present in protein hydrolysates," *Journal of the American Oil Chemists' Society*, vol. 68, no. 10, pp. 785–790, 1991.

[9] B. Svejkovska, M. Dolezal, and J. Velisek, "Formation and decomposition of 3-chloropropane-1,2-diol esters in models simulating processed foods," *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 24, no. 4, p. 172, Jan. 2006.

[10] EFSA CONTAM Panel, "Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food," *EFSA Journal*, vol. 14, no. 5, pp. 1–159, 2016.

[11] C. G. Hamlet and P. A. Sadd, "Chloropropanols and their esters in baked cereal products," *Czech Journal of Food Sciences*, vol. 22, pp. 259–262, 2004.

[12] IARC Scientific, *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, vol. 77, Oxford University Press, Oxford, UK, 2000.
[13] H. Y. Tsai, J. N. Hsu, C. J. Fang, and N. W. Su, "Determination of glycidyl esters and 3-MCPD esters in edible oils by sample pretreatment with the combination of lipase hydrolysis and modified QuEChERS for GC-MS analysis," *Journal of Food and Drug Analysis*, vol. 29, pp. 153–167, Feb. 2021.
[14] Tiêu chuẩn Việt Nam, "Dầu mỡ động vật và thực vật – Xác định các chloropropanediol (MCPD) liên kết với axit béo và glycidol bằng sắc ký khối phổ (GC/MS) – Phần 1: Phương pháp sử dụng sự chuyển hóa este kiềm nhanh, đo 3-MCPD và phép đo vi sai glycidol," *TCVN 12081-1:2017*, 2017.
[15] M. Dubois, "Determination of 2- and 3-MCPD as well as 2- and 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters (GE) in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry: First Action 2018.03," *AOAC International*, vol. 102, no. 3, pp. 903–914, 2019.
[16] J. Kuhlmann, "Glycidyl esters and MCPD esters in instant noodles and related products," *European food safety monitoring report*, 2011.
[17] K. Shirotori, M. Shimizu, and M. Horie, "Occurrence of glycidyl fatty acid esters and 3-MCPD esters in instant noodles and fried snacks in Japan," *Food Additives and Contaminants: Part A*, vol. 33, no. 5, pp. 760–768, 2016.
[18] B. D. Craft, P. Nagy, S. Szeitz, and M. Dubois, "Effect of refining conditions on the formation of glycidyl esters and 3-MCPD esters in vegetable oils," *Food Chemistry*, vol. 138, no. 3, pp. 2152–2159, 2013.
[19] M. Marzocchi, M. Panseri, S. Chiesa, and S. Zecconi, "Impact of deep-frying practices and repeated use of vegetable oils on the formation of 3-MCPD esters and glycidyl esters," *Food Control*, vol. 118, pp. 107–115, 2020.
[20] FAO/WHO Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA), "Evaluation of certain contaminants in food: 3-MCPD, 3-MCPD esters and glycidyl esters," *WHO Technical Report Series*, no. 1012, World Health Organization, Geneva, 2016.

OPTIMIZED GC–MS/MS PROTOCOL FOR DETERMINING 2-MCPDE, 3-MCPDE, AND GLYCIDYL ESTERS IN INSTANT NOODLES

LE DINH VU[1], TRUONG NGOC QUYEN[2]
[1]*Institute of Environmental Science, Engineering and Management, Industrial University of Ho Chi Minh City*
[2]*Quality Assurance and Testing Center 3 (QUATEST 3)*
**Corresponding author: ledinhvu@iuh.edu.vn*

Abstract. 2-Monochloropropane-1,3-diol esters (2-MCPDE), 3-monochloropropane-1,2-diol esters (3-MCPDE), and glycidyl esters (GE) are process contaminants formed during high-temperature processing of fat-rich foods. After entering the human body, these compounds can undergo hydrolysis to generate 2-MCPD, 3-MCPD, and glycidol, which have been reported for their potential carcinogenicity and adverse health effects. In this study, a GC–MS/MS analytical method was developed and optimized for the simultaneous quantification of 2-MCPDE, 3-MCPDE, and GE in food, with instant noodles selected as the representative matrix. Sample pretreatment parameters including sample mass, extraction and clean-up procedures, bromination conditions, hydrolysis reaction, and PBA derivatization were systematically investigated to maximize recovery and enhance analytical sensitivity with the method detection limit of 2 µg/kg, recovery from 83.6 to 111% . The optimized method was subsequently applied to the analysis of 18 commercial instant noodle samples. The results showed that all three compounds were detected in 100% of the samples, with concentrations ranging from 129–443 µg/kg for 2-MCPDE, 116–224 µg/kg for 3-MCPDE, and 144–332 µg/kg for GE. Several samples contained levels exceeding the reference limits established by the EU for infant formula and young-child food products, indicating potential food safety concerns. The optimized analytical procedure developed in this study can be applied in food testing laboratories and supports regulatory monitoring of fat-rich processed foods.
Keywords. *2-MCPDE; 3-MCPDE; glycidyl esters; GC–MS/MS; instant noodles; food safety.*

Ngày nhận bài: 05/12/2025
Ngày chấp nhận đăng: 06/02/2026