

# Xây dựng quy trình phân tích đồng thời một số phthalat trong nước sơn móng tay bằng phương pháp *LC-MS*

Nguyễn Hữu Lạc Thủy<sup>1</sup>, Thạch Thị Bô Pha<sup>2</sup>, Nguyễn Đức Tuấn<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Khoa Dược, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Khoa Y - Dược, Trường Đại học Trà Vinh

## Summary

A highly sensitive LC-MS method was successfully developed for simultaneous analysis of 19 phthalates in nail polish product, of which six phthalates are in the prohibited list of the ASEAN Harmonization System Agreement for Cosmetic Management. The suitable chromatographic conditions were as follows: Hexyl phenyl column (100 x 2.1 mm; 1.7  $\mu$ m), the column temperature at 35 °C, flow rate of 0.3 ml/min, injection volume of 5  $\mu$ l, mobile phase containing mixture of methanol and acetonitrile (1:1) and 5 mM ammonium acetate solution in gradient mode. Mass analysis was performed by using an ESI source in positive mode, dry gas flow of 10 l/min, detection voltage at 5000 Volt, quadrupole temperature at 100 °C, and transfer temperature at 330 °C. The method was validated according to the guidance of USP 43 and ISO 12787:2011 for cosmetic analysis by chromatographic method. By using di-n-butyl phthalate- $d_4$  and di-ethylhexyl phthalate- $d_4$  as internal standard, a very good linearity range of the phthalates (0.10 – 1.00  $\mu$ g/ml,  $R^2 > 0.996$ ) was achieved. The recoveries of the phthalates at three concentration levels (LOQ, 3LOQ, and 5LOQ) were in the range of 80.0 % - 110.0 % with the relative standard deviations of 0.1 % - 4.0 %. LOD was 0.03  $\mu$ g/ml. The validated method can be applied for simultaneous determination of the phthalates in available nail polish products.

**Keywords:** Phthalate, nail polish, LC-MS.

## Đặt vấn đề

Nước sơn móng tay (NSMT) là sản phẩm làm đẹp phổ biến và được phụ nữ ưa chuộng. Không như các loại mỹ phẩm khác, thời gian tiếp xúc trực tiếp và lưu lại trên móng tay rất dài, thông thường khoảng 7 ngày. Vì vậy, khả năng phơi nhiễm những thành phần gây độc tính cho người sử dụng cũng cao hơn. Phthalat là nhóm hóa chất thường được sử dụng làm chất phụ gia trong sản xuất NSMT do làm tăng độ trơn bóng và sáng màu nước sơn. Tuy nhiên, một số nghiên cứu cho thấy ở cả bé trai và gái có sử dụng NSMT đã làm thay đổi thời gian dậy thì <sup>[1]</sup>, gây rối loạn estrogen dẫn đến thúc đẩy quá trình ung thư vú <sup>[2]</sup>, ảnh hưởng đến chức năng gan làm tăng nồng độ ALT và AST <sup>[3]</sup>.

Với các đối tượng như mẫu không khí, đồ chơi trẻ em, Việt Nam đã có các TCVN để đánh giá một số phthalat cấm bằng phương pháp **GC-MS** <sup>[4]</sup>. Một số công trình nghiên cứu ứng dụng phương pháp **LC-MS** để phân tích các phthalat trong mỹ phẩm, nước muối sinh lý <sup>[5-6]</sup>, phương pháp **LC-UV** để xác định phthalat trong các mẫu nhựa và mỹ phẩm, trong đó có NSMT <sup>[7-9]</sup>. Tại Việt Nam đã có nghiên cứu định lượng 6 phthalat trong NSMT bằng phương pháp **HPLC-PDA** <sup>[10]</sup> và chưa có nghiên cứu nào ứng dụng phương pháp **LC-MS** để phân tích đồng thời một số phthalat trong NSMT. Trong khi đó, NSMT 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. Theo Hiệp định về hệ thống hòa hợp ASEAN trong quản lý mỹ phẩm <sup>[11]</sup> và Quy định số 1223/2009 của Châu Âu <sup>[12]</sup> có quy định một số phthalat cấm sử dụng trong NSMT và mỹ phẩm như benzyl butyl phthalat,

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Đức Tuấn

Email: ductuan@ump.edu.vn

Ngày nhận: 27/6/2021

Ngày phản biện: 29/9/2021

Ngày duyệt bài: 25/11/2021

bis(2-methoxyethyl) phthalat, di-2-ethylhexyl phthalat, di-n-pentyl phthalat, diisopentyl phthalat, di-n-butyl phthalat và n-pentyl isopentylphthalat. Tiếp nối công trình nghiên cứu ứng dụng phương pháp **GC-MS** để phân tích các hợp chất phthalat trong NSMT, trong nghiên cứu này, một quy trình phân tích ứng dụng phương pháp **LC-MS** đã được xây dựng để phát triển thêm một kỹ thuật phân tích phthalat, góp phần vào công tác kiểm tra chất lượng mỹ phẩm tại Việt Nam.

### Nguyên liệu và phương pháp

#### Nguyên liệu

**Chất đối chiếu:** Bảng 1 trình bày danh mục các phthalat đối chiếu được cung cấp bởi công ty Chemservice và 2 nội chuẩn đồng vị di-n-butyl

phthalat-d<sub>4</sub> và di-2-ethylhexyl phthalat-d<sub>4</sub> do Hãng Sigma Aldrich cung cấp.

**Dung môi:** n-hexan, aceton, ethyl acetat và tetrahydrofuran đạt tiêu chuẩn phân tích, methanol và acetonitril đạt tiêu chuẩn dùng cho sắc ký lỏng do Hãng Merck cung cấp.

**Trang thiết bị:** Hệ thống sắc ký lỏng Agilent LC Infinity 1260, đầu dò MS 1 lần tứ cực MSD 6130 (LC - DAD - MS). Cột Phenomenex C<sub>18</sub> và cột hexyl phenyl (100 x 2,1 mm; 1,7 μm), cân phân tích, bể siêu âm và các dụng cụ thủy tinh như bình định mức, pipet có độ chính xác phù hợp cho mỗi thử nghiệm. Các thiết bị và dụng cụ phân tích đã được hiệu chuẩn đạt quy định theo GLP và ISO/IEC 17025.

**Bảng 1.** Danh mục các chất đối chiếu phthalat và nội chuẩn dùng trong nghiên cứu

| STT | Chất đối chiếu                          | Ký hiệu | % tinh khiết | M (g/mol) | Số lô    | Ion định lượng (m/z) <sup>[13]</sup> |
|-----|-----------------------------------------|---------|--------------|-----------|----------|--------------------------------------|
| 1   | Bis(2-methoxyethyl) phthalat            | DMEP*   | 99,5         | 282,3     | 9771500  | 195                                  |
| 2   | Dimethyl phthalat                       | DMP     | 99,5         | 194,2     | 10131500 | 163                                  |
| 3   | Diethyl phthalat                        | DEP     | 98,9         | 222,2     | 10343500 | 223                                  |
| 4   | Diisopropyl phthalat                    | DiPrP   | 97,0         | 250,3     | 10243500 | 251                                  |
| 5   | Di-n-propyl phthalat                    | DPrP    | 99,5         | 250,3     | 10290800 | 251                                  |
| 6   | Diisobutyl phthalat                     | DiBP    | 99,2         | 278,3     | 10037300 | 279                                  |
| 7   | Di-n-butyl phthalat                     | DBP *   | 99,5         | 278,3     | 10390700 | 279                                  |
| 8   | Benzyl butyl phthalat                   | BBP *   | 98,7         | 312,4     | 10255100 | 313                                  |
| 9   | Diisopentyl phthalat                    | DiPP *  | 99,5         | 306,4     | 10131300 | 307                                  |
| 10  | Di-n-pentyl phthalat                    | DnPP *  | 99,2         | 306,4     | 10340200 | 307                                  |
| 11  | Dicyclohexyl phthalat                   | DCyHP   | 99,5         | 330,4     | 10489100 | 331                                  |
| 12  | Di-n-hexyl phthalat                     | DHP     | 99,5         | 334,4     | 9771600  | 335                                  |
| 13  | Diisohexyl phthalat                     | DiHP    | 99,0         | 334,4     | 41339733 | 335                                  |
| 14  | Di-n-heptyl phthalat                    | DHpP    | 99,5         | 362,5     | 9977800  | 363                                  |
| 15  | Di-2-ethylhexyl phthalat                | DEHP *  | 99,5         | 390,6     | 10473000 | 391                                  |
| 16  | Di-n-octyl phthalat                     | DnOP    | 99,5         | 390,6     | 41339732 | 391                                  |
| 17  | Diisononyl phthalat                     | DiNP    | 100,0        | 418,6     | 10131200 | 419                                  |
| 18  | Dinonyl phthalat                        | DNP     | 99,5         | 418,6     | 10977800 | 419                                  |
| 19  | Diisodecyl phthalat                     | DiDP    | 99,5         | 447,7     | 9793600  | 447                                  |
| 20  | Di-n-butyl phthalat-d <sub>4</sub>      | D4-DBP  | 98,0         | 282,4     | 9771600  | 283                                  |
| 21  | Di-2-ethylhexyl phthalat-d <sub>4</sub> | D4-DEHP | 99,0         | 391,0     | 10131201 | 395                                  |

\*Các phthalat là chất cấm <sup>[11-12]</sup>; M: trọng lượng phân tử.

### Phương pháp nghiên cứu

Dựa vào đặc tính lý hóa của các phthalat, đặc điểm của mẫu NSMT và tham khảo một số tài liệu [5-10], kỹ thuật **LC-MS** đã được lựa chọn để xây dựng quy trình phân tích đồng thời một số phthalat trong NSMT. Quy trình sau khi được xây dựng đã được thẩm định theo hướng dẫn của USP 43 [14] và ISO 12787:2011 [15] đối với quy trình phân tích mỹ phẩm bằng phương pháp sắc ký. Các chỉ tiêu thẩm định bao gồm khảo sát tính phù hợp của hệ thống, tính đặc hiệu, tính tuyến tính và miền giá trị, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ chính xác và độ đúng.

Mẫu giả lập (mẫu NSMT màu xanh tím) và dung môi chiết (hỗn hợp tetrahydrofuran và *n*-hexan (1:2)) được lựa chọn từ kết quả nghiên cứu ứng dụng phương pháp **GC-MS** để phân tích các hợp chất phthalat trong NSMT [16].

#### Chuẩn bị mẫu

**Mẫu trắng:** Dung môi pha mẫu acetonitril.

**Dung dịch nội chuẩn gốc:** Dung dịch DBP-d<sub>4</sub> và DEHP-d<sub>4</sub> được hòa tan trong acetonitril có nồng độ 1 mg/ml.

**Dung dịch đối chiếu gốc:** Hỗn hợp các phthalat đối chiếu được hòa tan trong acetonitril có nồng độ mỗi phthalat là 1 mg/ml. Từ các dung dịch gốc, pha loãng với acetonitril để được các dung dịch đối chiếu cho mục đích khảo sát có nồng độ mỗi chất phân tích là 1,0 µg/ml và cho mục đích thẩm định quy trình có nồng độ phù hợp cho mỗi thử nghiệm.

#### Chuẩn bị mẫu thử thẩm định quy trình

**Dung dịch khảo sát tính phù hợp của hệ thống:** Từ dung dịch đối chiếu gốc và dung dịch nội chuẩn gốc, tiến hành pha loãng với acetonitril để được dung dịch đối chiếu và nội chuẩn có nồng độ 1,0 µg/ml.

**Dung dịch đối chiếu để xác định đường tuyến tính:** Từ dung dịch đối chiếu gốc và dung dịch nội chuẩn gốc, tiến hành pha loãng với acetonitril để được 5 dung dịch đối chiếu có nồng độ 0,1; 0,2; 0,3; 0,5 và 1,0 µg/ml và nội chuẩn 1,0 µg/ml.

**Dung dịch mẫu giả lập để khảo sát độ đặc hiệu:** Cân 0,5 g mẫu giả lập, cho vào lọ thủy tinh có nắp đậy, thêm 0,5 ml dung dịch nội chuẩn 10 µg/ml, thêm hỗn hợp dung môi chiết

tetrahydrofuran – *n*-hexan (1:2), siêu âm 15 phút, ly tâm 4000 vòng/phút trong 15 phút, lọc lấy dịch lọc, cô thu hồi dung môi đến cạn. Hòa tan cặn trong 5 ml acetonitril, lọc qua màng lọc 0,22 µm.

**Dung dịch mẫu thử thẩm định độ đúng và chính xác:** Cân 0,5 g mẫu giả lập, cho vào lọ thủy tinh có nắp đậy, thêm 0,5 ml dung dịch nội chuẩn 10 µg/ml, thêm một thể tích chính xác dung dịch đối chiếu để có 3 mức nồng độ cuối cùng là 0,1; 0,3 và 0,5 µg/ml. Tiếp tục thêm hỗn hợp dung môi chiết tetrahydrofuran – *n*-hexan (1:2), siêu âm 15 phút, ly tâm 4000 vòng/phút trong 15 phút, lọc lấy dịch lọc, cô thu hồi dung môi đến cạn. Hòa tan cặn trong 5 ml acetonitril, lọc qua màng lọc 0,22 µm. Mỗi mức nồng độ được pha và phân tích độc lập 3 lần trên hệ thống **LC-MS**.

#### Khảo sát điều kiện sắc ký

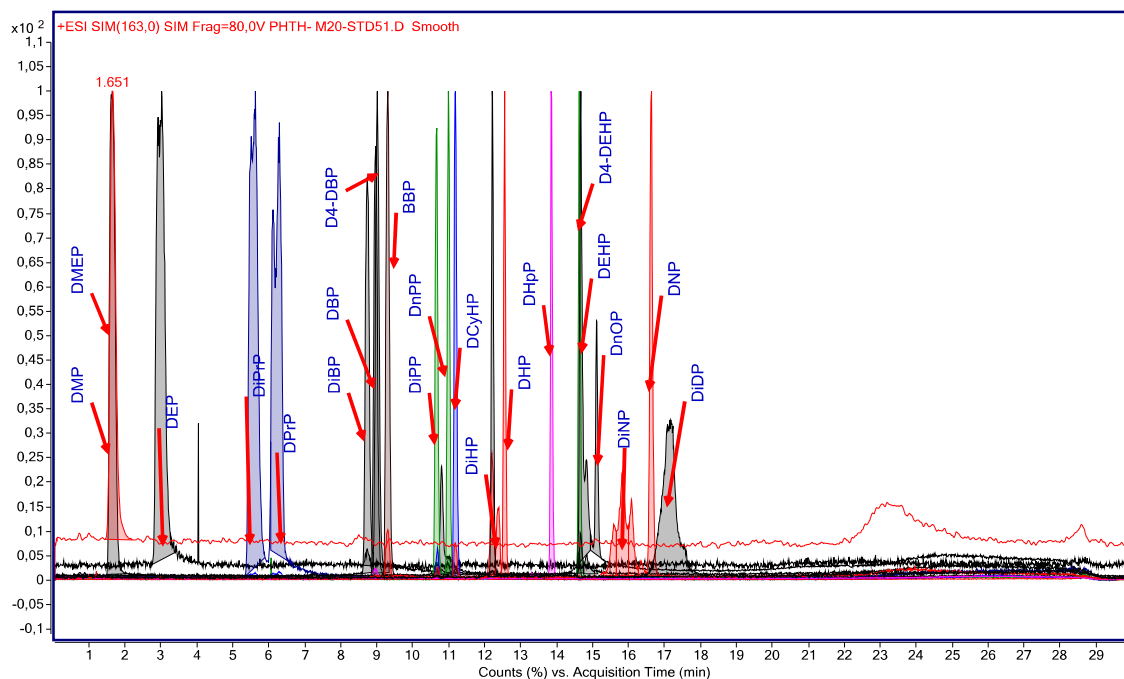
Điều kiện sắc ký cố định: Nhiệt độ cột 35 °C, thể tích tiêm 5 µl, tốc độ dòng 0,3 ml/phút, đầu dò khối phổ với điện thế đầu cone 5000 V, chế độ ion hóa ESI(+), nhiệt độ khí chuyển 330 °C, nhiệt độ tứ cực 100 °C, tốc độ dòng khí khô 10 lít/phút. Trong quá trình thực nghiệm, tiến hành khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả tách là dung môi pha động và cột sắc ký. Điều kiện sắc ký thích hợp được lựa chọn đáp ứng yêu cầu tách hoàn toàn các phthalat, đặc biệt là các phthalat có cùng trọng lượng phân tử (DPrP và DiPrP; DBP và DiBP; DnPP và DiPP; DHP và DiHP; DNP và DiNP; DEHP và DnOP).

#### Kết quả

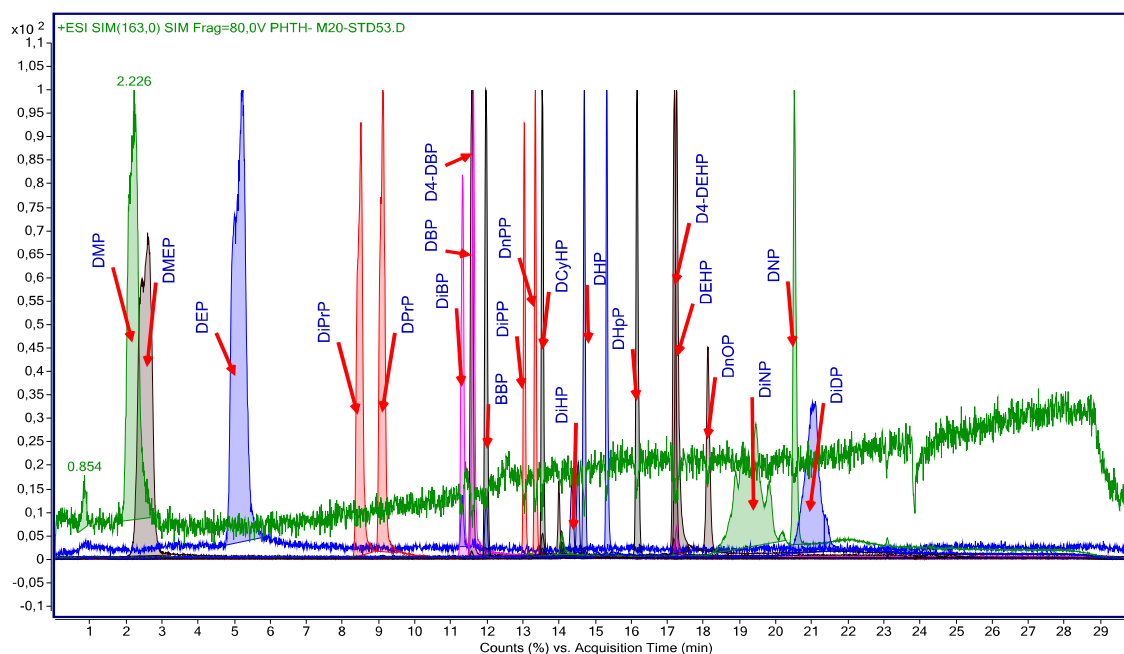
##### Khảo sát pha động

Từ các kết quả khảo sát ban đầu về dung môi, tỷ lệ dung môi, kiểu rửa giải đẳng dòng và gradient, hai hệ dung môi pha động sau đây đã được lựa chọn để khảo sát. Hệ dung môi (1) bao gồm acetonitril và dung dịch amoni acetat 5 mM, hệ dung môi (2) bao gồm hỗn hợp acetonitril – methanol (1:1) và dung dịch amoni acetat 5 mM.

Hình 1 và hình 2 minh họa sắc ký đồ của mẫu giả lập thêm hỗn hợp đối chiếu có nồng độ mỗi phthalat 1,0 µg/ml với hai hệ dung môi khảo sát.



**Hình 1.** Sắc ký đồ mẫu giả lập thêm chất đối chiếu với hệ dung môi 1, sử dụng cột Hexyl phenyl (100 x 2,1 mm; 1,7  $\mu$ m)



**Hình 2.** Sắc ký đồ mẫu giả lập thêm chất đối chiếu với hệ dung môi 2, sử dụng cột Hexyl phenyl (100 x 2,1 mm; 1,7  $\mu$ m)

**Bảng 2.** Chương trình rửa giải gradient với hai hệ dung môi khảo sát

| Hệ dung môi (1)  |                 |                       | Hệ dung môi (2)  |                                  |                       |
|------------------|-----------------|-----------------------|------------------|----------------------------------|-----------------------|
| Thời gian (phút) | Acetonitril (%) | Amoni acetat 5 mM (%) | Thời gian (phút) | Acetonitril - methanol (1:1) (%) | Amoni acetat 5 mM (%) |
| 0                | 40              | 60                    | 0                | 40                               | 60                    |
| 10               | 80              | 20                    | 10               | 80                               | 20                    |
| 15               | 80              | 20                    | 15               | 80                               | 20                    |
| 20               | 95              | 5                     | 20               | 95                               | 5                     |
| 25               | 40              | 60                    | 25               | 40                               | 60                    |
| 30               | 40              | 60                    | 30               | 40                               | 60                    |

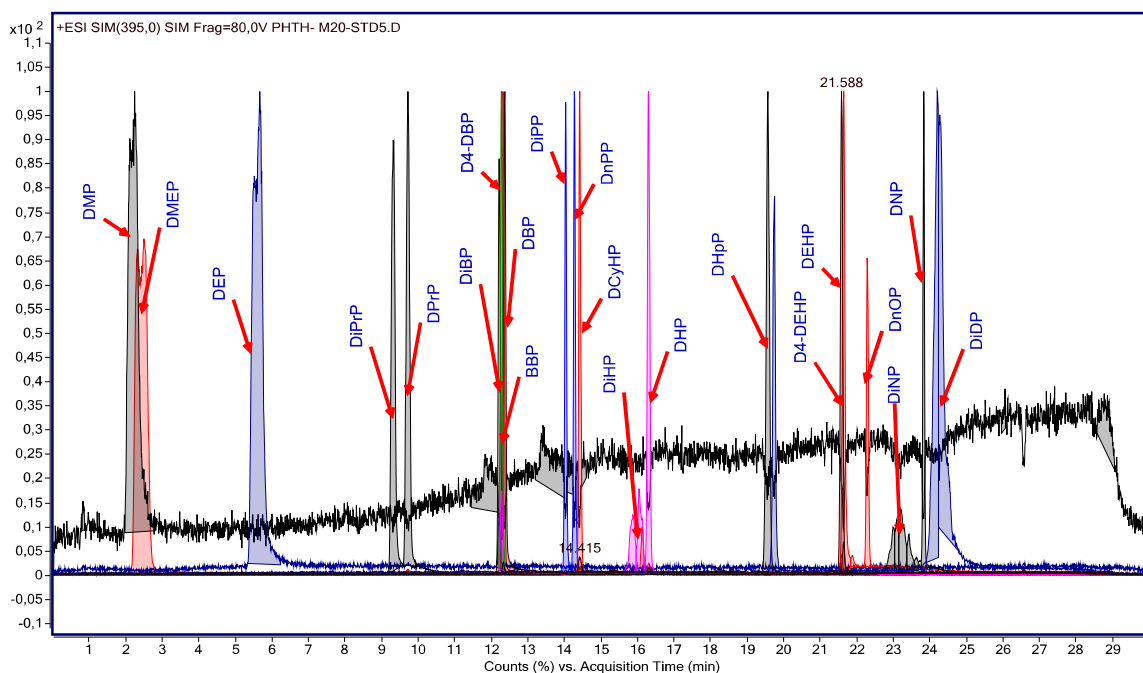
Kết quả khảo sát cho thấy hệ dung môi (2) được lựa chọn vì các phthalat có cùng trọng lượng phân tử như DPrP và DiPrP, DBP và DiBP, DEHP và DnOP đều tách hoàn toàn.

#### Khảo sát cột sắc ký

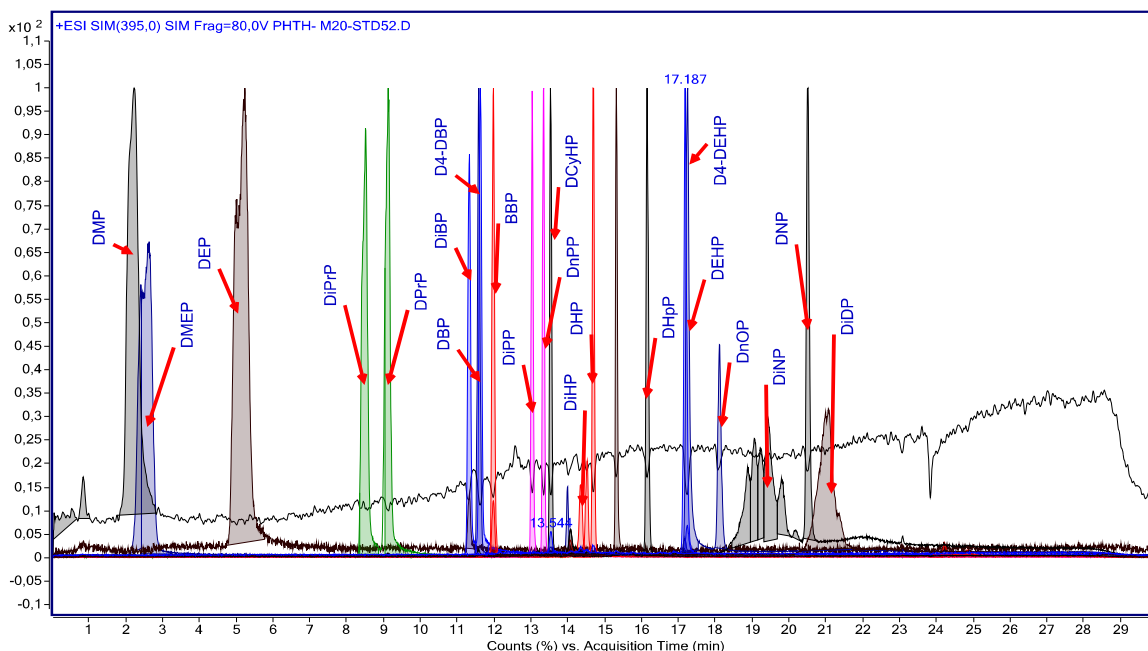
Hình 3 và hình 4 minh họa sắc ký đồ của mẫu giả lập thêm hỗn hợp đối chiếu có nồng độ mỗi phthalat 1,0 µg/ml với hai cột sắc ký khảo sát.

Kết quả khảo sát cho thấy cột Hexyl phenyl được lựa chọn vì tất cả các phthalat có cùng trọng lượng phân tử đều tách hoàn toàn.

Như vậy, điều kiện sắc ký thích hợp để phân tích đồng thời các phthalat như sau: Cột Hexyl phenyl (100 x 2,1 mm; 1,7 µm), nhiệt độ cột 35 °C, thể tích tiêm mẫu 5 µl, tốc độ dòng 0,3 ml/phút, pha động là hệ dung môi (2), đầu dò khối phổ với điện thế đầu cone 5000 V, chế độ ion hóa ESI(+), nhiệt độ khí chuyển 330 °C, nhiệt độ tứ cực 100 °C, tốc độ dòng khí khô 10 lít/phút.



**Hình 3.** Sắc ký đồ mẫu giả lập thêm chất đối chiếu với cột Phenomenex C<sub>18</sub> (100 x 2,1 mm; 1,7 µm), sử dụng hệ dung môi (2)



**Hình 4.** Sắc ký đồ mẫu giả lập thêm chất đối chiếu với cột Hexyl phenyl (100 x 2,1 mm; 1,7  $\mu$ m), sử dụng hệ dung môi (2)

**Thẩm định quy trình**  
**Tính phù hợp của hệ thống**

**Bảng 3.** Kết quả khảo sát tính phù hợp của hệ thống trên dung dịch đối chiếu phthalat 1,0  $\mu$ g/ml (n = 6)

| Phthalat | Thời gian lưu (phút) |       | Tỷ số diện tích pic so với nội chuẩn |       | Độ phân giải* |
|----------|----------------------|-------|--------------------------------------|-------|---------------|
|          | Trung bình           | RSD % | Trung bình                           | RSD % |               |
| DMP      | 1,9779               | 1,87  | 0,1137                               | 1,8   |               |
| DMEP     | 2,089                | 1,92  | 1,9625                               | 1,3   |               |
| DEP      | 4,261                | 0,76  | 0,4761                               | 0,9   |               |
| DiPrP    | 7,647                | 0,26  | 1,2143                               | 1,1   | 1,5           |
| DPrP     | 8,333                | 0,21  | 1,3286                               | 1,2   |               |
| DiBP     | 10,775               | 0,09  | 1,858                                | 0,4   | 1,7           |
| DBP      | 11,104               | 0,06  | 2,1103                               | 1,3   |               |
| DiPP     | 12,65                | 0,06  | 2,6117                               | 0,4   | 1,6           |
| DnPP     | 12,976               | 0,05  | 2,6719                               | 0,6   |               |
| DiHP     | 14,222               | 0,07  | 1,9113                               | 1,8   | 1,5           |
| DHP      | 14,385               | 0,03  | 1,3553                               | 1,7   |               |
| BBP      | 11,491               | 0,09  | 2,8248                               | 0,3   |               |
| DCyHP    | 13,181               | 0,06  | 4,0897                               | 0,6   |               |
| DHpP     | 15,749               | 0,07  | 2,4034                               | 0,7   |               |
| DEHP     | 16,717               | 0,08  | 3,6426                               | 1,6   | 3,0           |
| DnOP     | 17,466               | 0,07  | 1,9079                               | 1,9   |               |
| DiNP     | 18,63                | 0,06  | 2,8706                               | 1,2   | 3,1           |
| DNP      | 19,797               | 0,10  | 1,6269                               | 1,5   |               |
| DiDP     | 20,463               | 0,22  | 1,3125                               | 1,8   |               |

\* Độ phân giải của các phthalat là đồng phân vị trí và các phthalat có cùng trọng lượng phân tử.

**Nhận xét:** Kết quả khảo sát cho thấy giá trị RSD của thời gian lưu và tỷ số diện tích pic phthalat so với nội chuẩn không quá 2 %, độ phân giải của các phthalat là đồng phân vị trí và các phthalat có cùng trọng lượng phân tử đều lớn hơn 1,5. Như vậy, quy trình đạt tính phù hợp của hệ thống.

#### **Tính đặc hiệu**

Kết quả khảo sát tính đặc hiệu cho thấy trong cùng điều kiện phân tích, sắc ký đồ mẫu trắng và mẫu giả lập không xuất hiện pic tại các khoảng thời gian lưu tương ứng với các phthalat đối chiếu và chuẩn nội trong sắc ký đồ dung dịch đối chiếu; sắc ký đồ mẫu giả lập thêm chất đối chiếu xuất hiện các pic có thời gian lưu tương ứng với các pic trong dung dịch đối chiếu.

Như vậy, quy trình có tính đặc hiệu.

#### **Tính tuyến tính, miền giá trị, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ chính xác và độ đúng**

Tính tuyến tính và miền giá trị của mỗi phthalat được khảo sát trên dung dịch đối chiếu, với khoảng nồng độ (0,1 µg/ml – 1,0 µg/ml). Giới hạn định lượng (LOQ) của mỗi phthalat được xác định từ thực nghiệm trên các mẫu giả lập thêm chất đối chiếu được pha loãng đến nồng độ mà tại đó đạt độ chính xác và độ đúng. Giới hạn phát hiện (LOD) của mỗi phthalat được xác định từ 1/3 giá trị LOQ tương ứng. Độ chính xác và độ đúng của quy trình được đánh giá trên mẫu giả lập thêm chất đối chiếu tại 3 mức nồng độ LOQ, 3 lần LOQ và 5 lần LOQ.

**Bảng 4. Kết quả khảo sát tính tuyến tính, miền giá trị, LOD, LOQ, độ chính xác và độ đúng**

| Phthalat | Nồng độ (µg/ml) | Độ chính xác và độ đúng (n = 3) |       |                      | Phương trình hồi quy | R <sup>2</sup> | Khoảng tuyến tính (µg/ml) | LOQ (µg/ml) | LOD (µg/ml) |
|----------|-----------------|---------------------------------|-------|----------------------|----------------------|----------------|---------------------------|-------------|-------------|
|          |                 | Tỷ lệ thu hồi (%)               | RSD % | Miền giá trị (µg/ml) |                      |                |                           |             |             |
| DMP      | 0,1             | 98,0 – 98,6                     | 0,3   | 0,1 - 0,5            | $y = 0,6251x$        | 0,9992         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 98,2 - 102,5                    | 2,2   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 99,1 - 100,1                    | 0,5   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DEP      | 0,1             | 104,3 - 105,9                   | 0,8   | 0,1 - 0,5            | $y = 2,0330x$        | 0,9994         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 101,3 - 103,1                   | 0,9   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 106,1 - 108,0                   | 0,9   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DiPrP    | 0,1             | 101,2 - 102,2                   | 0,5   | 0,1 - 0,5            | $y = 3,6356x$        | 0,9988         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 100,3 - 103,1                   | 1,6   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 102,6 - 105,4                   | 1,3   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DPrP     | 0,1             | 97,1 - 104,6                    | 4,0   | 0,1 - 0,5            | $y = 3,4041x$        | 0,9986         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 98,6 - 101,2                    | 1,3   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 95,4 - 97,8                     | 1,0   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DMEP     | 0,1             | 95,3 - 96,8                     | 0,9   | 0,1 - 0,5            | $y = 6,9815x$        | 0,9990         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 95,2 - 96,3                     | 0,6   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 98,8 - 101,0                    | 1,2   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DiBP     | 0,1             | 101,6 - 101,8                   | 0,1   | 0,1 - 0,5            | $y = 4,1306x$        | 0,9995         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 99,7 - 102,5                    | 1,4   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 100,1 - 101,8                   | 0,9   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DBP      | 0,1             | 100,1 - 100,8                   | 0,3   | 0,1 - 0,5            | $y = 4,5715x$        | 0,9991         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 99,8 - 102,3                    | 1,3   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 100,8 - 101,3                   | 0,2   |                      |                      |                |                           |             |             |
| BBP      | 0,1             | 103,1 - 103,9                   | 0,4   | 0,1 - 0,5            | $y = 5,8003x$        | 0,9988         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 102,5 - 102,6                   | 0,1   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 102,4 - 103,0                   | 0,3   |                      |                      |                |                           |             |             |
| DiPP     | 0,1             | 80,9 - 81,8                     | 0,6   | 0,1 - 0,5            | $y = 5,2299x$        | 0,9986         | 0,1 - 1,0                 | 0,10        | 0,03        |
|          | 0,3             | 80,5 - 82,9                     | 1,7   |                      |                      |                |                           |             |             |
|          | 0,5             | 81,4 - 81,6                     | 0,1   |                      |                      |                |                           |             |             |

|              |     |               |     |           |                              |        |           |      |      |
|--------------|-----|---------------|-----|-----------|------------------------------|--------|-----------|------|------|
| <i>DnPP</i>  | 0,1 | 99,1 - 100,6  | 0,8 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 5,2568x$          | 0,9967 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 98,1 - 103,1  | 2,5 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 102,9 - 103,6 | 0,4 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DiHP</i>  | 0,1 | 98,0 - 99,4   | 0,7 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 4,2920x$          | 0,9982 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 97,0 - 99,0   | 1,1 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 98,9 - 101,7  | 1,4 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DHP</i>   | 0,1 | 106,8 - 107,9 | 0,5 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 6,9674x$          | 0,9991 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 107,4 - 108,3 | 0,4 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 104,0 - 106,6 | 0,1 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DCyHP</i> | 0,1 | 91,9 - 92,4   | 0,3 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 7,6158x$          | 0,9963 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 96,4 - 99,9   | 1,9 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 101,7 - 104,7 | 1,7 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DHpP</i>  | 0,1 | 103,6 - 104,9 | 0,6 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 5,2574x$          | 0,9992 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 101,7 - 104,2 | 1,4 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 102,6 - 105,6 | 1,5 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DEHP</i>  | 0,1 | 93,1 - 96,5   | 1,9 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 6,0804x + 0,5541$ | 0,9992 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 91,1 - 93,2   | 1,3 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 97,2 - 97,6   | 0,2 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DnOP</i>  | 0,1 | 92,4 - 92,6   | 0,1 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 4,4135x$          | 0,9992 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 90,3 - 91,3   | 0,5 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 92,3 - 93,4   | 0,6 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DiNP</i>  | 0,1 | 104,2 - 105,7 | 0,8 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 3,7108x + 0,6941$ | 0,9988 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 101,8 - 103,2 | 0,7 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 100,8 - 101,9 | 0,6 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DNP</i>   | 0,1 | 103,6 - 105,2 | 0,8 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 4,0359x$          | 0,9981 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 98,2 - 98,9   | 0,4 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 94,8 - 95,5   | 0,4 |           |                              |        |           |      |      |
| <i>DiDP</i>  | 0,1 | 80,2 - 82,6   | 1,6 | 0,1 - 0,5 | $\hat{y} = 2,3646x$          | 0,9989 | 0,1 - 1,0 | 0,10 | 0,03 |
|              | 0,3 | 80,0 - 80,7   | 0,5 |           |                              |        |           |      |      |
|              | 0,5 | 80,3 - 81,2   | 0,6 |           |                              |        |           |      |      |

**Nhận xét:** Quy trình phân tích đạt tính tuyến tính với giá trị  $r^2 > 0,995$ . Tỷ lệ thu hồi của các phthalat trong khoảng nồng độ khảo sát từ 0,1 – 0,5 µg/ml nằm trong khoảng 80 % - 110 % với giá trị RSD không quá 11 % nên quy trình có độ chính xác và độ đúng cao [17].

Như vậy, quy trình phân tích đồng thời 19 phthalat trong nước sơn móng tay bằng phương pháp **LC-MS** đạt yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống, có tính đặc hiệu, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng thấp, miền giá trị rộng, độ chính xác và độ đúng cao. Quy trình có thể được ứng dụng để định tính và định lượng các phthalat trong NSMT đang lưu hành trên thị trường.

### Bàn luận

Nước sơn móng tay là nền mẫu phức tạp và quy trình phân tích trong nghiên cứu này được xây dựng trên cơ sở phân tích tạp (vết), kế thừa

kết quả khảo sát chọn mẫu giả lập từ quy trình phân tích phthalat bằng kỹ thuật **GC-MS**, chọn NSMT có nền mẫu phức tạp, nhiều thành phần nhất và sắc ký đồ mẫu giả lập không phát hiện tín hiệu phthalat hoặc nếu có tín hiệu xuất hiện trong khoảng thời gian lưu của phthalat thì phải không được quá 3 lần nhiễu đường nền. Khác với đầu dò PDA, trên sắc ký đồ với đầu dò **MS** (kỹ thuật ghi phổ theo chế độ SIM - selected ion monitoring), các chất phân tích có khối lượng phân tử khác nhau sẽ có ion định lượng khác nhau nên không cần tách hoàn toàn. Đây là một trong những thuận lợi khi phân tích đồng thời các dẫn xuất phthalat. Tuy nhiên, trong số các phthalat phân tích, có 5 cặp phthalat là đồng phân vị trí và 1 cặp phthalat có cùng trọng lượng phân tử nên có cùng ion định lượng. Vì vậy, để đạt yêu cầu định lượng thì cần phải khảo sát điều kiện sắc ký để tách hoàn toàn

các phthalat này. Trong quá trình khảo sát, ngoài cột sắc ký thì dung môi pha động là điều kiện ảnh hưởng nhất đến hiệu quả tách của quy trình phân tích. Kết quả xác định LOD và LOQ cho thấy có thể ứng dụng quy trình để phát hiện các phthalat ở nồng độ từ 0,03 µg/ml và định lượng các phthalat có nồng độ từ 0,10 µg/ml mà vẫn đảm bảo độ chính xác và độ đúng cao.

### Kết luận

Phương pháp **LC-MS** đã được xây dựng thành công để phân tích đồng thời 19 phthalat trong nước sơn móng tay. Quy trình có tính đặc hiệu, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng thấp, độ chính xác và độ đúng cao. Quy trình có thể được áp dụng vào việc kiểm soát các phthalat trong nước sơn móng tay trên thị trường.

### Tài liệu tham khảo

1. Mohsen Golestanzadeh, Roya Riahi, Roya Kelishadi (2020), "Association of phthalate exposure with precocious and delayed pubertal timing in girls and boys: A systematic review and meta-analysis", *Journal of Environmental Science: Processes & Impacts*, 22, pp. 873 – 894.
2. Thomas P. Ahern, Anne Broe, Timothy L. Lash, et al. (2017), "Phthalate exposure and breast cancer incidence", *Journal of Clinical Oncology*, 37 (21), pp. 1775.
3. Nataša Milošević, Nataša Milić, Dragana Živanović Bosić, et al. (2017), "Potential influence of the phthalates on normal liver function and cardiometabolic risk in males", *Environmental Monitoring and Assessment*, 190 (1), pp. 17. Doi: 10.1007/s10661-017-6398-0.
4. TCVN 6238-6:2015, *An toàn đồ chơi trẻ em – Một số ester phthalat trong đồ chơi và sản phẩm dành cho trẻ em*; TCVN 10733:2017, *Không khí trong nhà – Xác định các phthalat bằng GC/MS*.
5. Hyun Jung Koo, Byung Mu Lee (2004), "Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment", *Journal of Toxicology and Environmental Health A.*, 67 (23-24), pp. 1901-1914.
6. LuLu, Yuki Hashi, Zhi-HuaWang, Yuan Ma, Jin-Ming Lin (2011), "Determination of phthalate esters in physiological saline solution by monolithic silica spin column extraction method", *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 1 (2), pp. 92 - 99.

7. Tsanta Radaniel, Stéphanie Genay, Nicolas Simon, et al. (2014), "Quantification of five plasticizers used in PVC tubing through high performance liquid chromatographic - UV detection", *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.*, 965, pp. 158 - 163.

8. Hao-Yu Shen, Hai-Liang Jiang, Hong-Lei Mao, Gang Pan, Lu Zhou, Yun-Feng Cao, (2007), "Simultaneous determination of seven phthalates and four parabens in cosmetic products using HPLC-DAD and GC-MS methods", *J. Sep. Sci.*, 30 (1), pp. 48-54.

9. DeOrsi D., Gagliardi L., Porrà R., et al. (2006), "A environmentally friendly reversed - phase liquid chromatography method for phthalates determination in nail cosmetics", *Analytica Chimica. Acta.*, 555 (2), pp. 238 - 241.

10. Lê Thị Thu Cúc (2020), "Phân tích một số phthalat trong nước sơn móng tay bằng phương pháp HPLC", *Tạp chí Dược học*, 526, tr. 33 - 38.

11. ASEAN (2017), *ASEAN Cosmetic Documents - Annexes of the asean cosmetic directive update 2017*, Annex II, part1, pp. 28 - 50.

12. Official Journal of the European Union (2019), *Regulation (EC) No. 1223/2009 of the European parliament and of the council*, Annex II, pp. 103 - 120.

13. Jimmy Chan, Feng Shuang, et al. (2012), "Rapid, sensitive, and robust detection of phthalate in food using GC/MS or LC/MS", *Agilent Technologies*, pp. 6.

14. USP 43 (2020), URL: [https://online.uspnf.com/uspnf/document/1\\_GUI-D-E2C6F9E8-EA71-4B72-A7BA-76ABD5E72964\\_4\\_en-US](https://online.uspnf.com/uspnf/document/1_GUI-D-E2C6F9E8-EA71-4B72-A7BA-76ABD5E72964_4_en-US). Accessed on 29/04/2021.

15. ISO 12787:2011 (2012), *Cosmetics - analytical methods - validation criteria for analytical results using chromatographic techniques*, pp. 1-26.

16. Nguyễn Hữu Lạc Thủy, Thạch Thị Bô Pha, Nguyễn Hoàng Thảo My, Trương Văn Đạt, Nguyễn Đức Tuấn (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*, 22, tr. 88-96.

17. Ludwig Huber (2007), *Validation and qualification in analytical laboratories, second edition*, pp. 144 - 146.