

NGHIÊN CỨU CẢI TIẾN QUY TRÌNH PHÂN TÍCH VITAMIN C BẰNG PHƯƠNG PHÁP HPLC-UV

Đến tòa soạn 05-03-2021

Phạm Kim Phương, Nguyễn Thanh Tân
Công ty Khoa Học Công Nghệ Sài Gòn STC

Lê Văn Tân

Trường Đại Học Công Nghiệp Tp.HCM

Nguyễn Thủy Tiên, Nguyễn Thị Kim Ngọc, Nguyễn Phương Tuyền, Trần Quang Hiếu
Trường Đại Học Công Nghệ Sài Gòn

SUMMARY

IMPROVEMENT OF THE QUANTITATIVE ANALYSIS METHOD FOR DETERMINATION OF VITAMIN C BY HPLC-UV

This study mentioned some improvements of the Vitamin C analysis method by HPLC-UV. Vitamin C was extracted from the sample with Trichloroacetic acid (TCA), then L-Cysteine was added as a protective agent. LOD and LOQ achieved were 1.0 and 3.0, and linearity was observed from 0.05 to 100 mg/L. The relative standard deviation (RSD) values of the inter-assay precisions of the method were below 4.9%. The accuracy ranged from 93.12 to 103.91%. The recovery of the method was from 78 to 99%. The method showed that linearity, precision, accuracy, sensitivity, and stability required to quantify Vitamin C in the real sample. This method has been applied to analyze the content of Vitamin C in fruit samples (guava, orange, mango, banana), milk (raw milk powder, pasteurized milk). Vitamin C content in guava was from 413-1165 mg/kg, 194 ÷ 321 mg/kg for oranges; 29 ÷ 119 mg/kg for banana, 429 mg/kg for powdered milk, 5.1 ÷ 92.5 mg/kg with pasteurized and pasteurized milk.

Key words: vitamin C, HPCL-UV, Axit ascorbic.

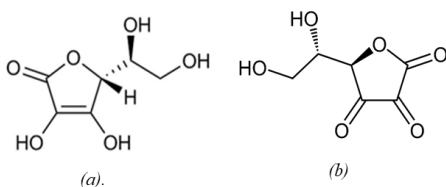
1.MỞ ĐẦU

Vitamin C, một hợp chất hữu cơ có nguồn gốc từ thiên nhiên, có vị chua, không mùi, dạng tinh thể màu trắng, tan trong nước, bền trong môi trường trung tính và môi trường acid. Trong tự nhiên, vitamin C tồn tại ở hai dạng axit ascorbic (dạng khử) và axit dehydroascorbic (dạng oxy hóa), hai dạng này có thể chuyển hóa qua lại lẫn nhau dựa trên phản ứng oxy hóa khử thuận nghịch (hình 1)[1].

Vitamin C là một chất khử sinh học trong các phản ứng hydroxy hóa và như có vai trò như một chất chống oxy hóa để bảo vệ cơ thể chống lại các tác nhân oxy hóa gây hại. Khi tham gia vào các phản ứng hydroxy hóa,

vitamin C thường hoạt động dưới dạng kết hợp với ion Fe^{2+} và Cu^{+} [2]. Ngoài ra vitamin C còn có vai trò tham gia tổng hợp hormone corticosteroid, tác động đến sự tổng hợp collagen, giúp hấp thụ lipid ở ruột, giúp tổng hợp glucose - corticoid và cần thiết với quá trình hấp thụ sắt trong tá tràng. Vitamin C tăng sức đề kháng, chống nhiễm trùng, nhiễm độc, cảm cúm, giảm stress, kháng virus, tăng tính miễn dịch[3]. Cơ thể người không thể tự tổng hợp được Vitamin C, do đó cần phải cung cấp vào cơ thể từ thực phẩm. Nhu cầu vitamin C phụ thuộc vào độ tuổi, khí hậu, phương thức lao động. Ion ascorbate đã được chứng minh là một chất chống oxy hóa hiệu quả, nó có thể tác

động trực tiếp bằng phản ứng với các gốc peroxy nước và gián tiếp bằng cách khôi phục các đặc tính chống oxy hóa của vitamin tan trong chất béo. Hậu quả chung của các hoạt động chống oxy hóa này là kiểm soát có lợi cho quá trình peroxy hóa, lipid của màng tế bào bao gồm cả những chất xung quanh như trong các bào quan nội bào[4]. Ngoài sự cung cấp vitamin C từ trái cây và rau củ, thì sữa bò cũng là nguồn cung cấp vitamin C thiết yếu. Vì vậy, con người có thể tận dụng các sản phẩm sữa bò làm nguồn thực phẩm giàu chất dinh dưỡng và đặc biệt là thành phần vitamin C [5], có tác nhân chống oxy hóa và tăng sức đề kháng cho con người có thể thay thế các nguồn thực phẩm chứa vitamin C khác.



Hình 1. Công thức cấu tạo của axit ascorbic (a) và axit dehydroascorbic (b)

Hiện nay, hàm lượng vitamin C đã được phân tích bằng nhiều phương pháp khác nhau như HPLC-UV[6], UHPLC-MS/MS[7]. Theo TCVN 8977: 2011, dịch chiết mẫu được sử dụng là dung dịch H_3PO_4 [8]; tuy nhiên, theo AOAC 2012.22 thì dung dịch TCA[9] được sử dụng cho dịch chiết mẫu. Vì vậy, trong nghiên cứu này, sẽ tiến hành khảo sát hai dịch chiết này nhằm tìm được điều kiện tối ưu cho quy trình xử lý mẫu chung cho nền sữa và trái cây. Ngoài ra, TCVN 8977: 2011 có sử dụng chất khử L-Cystein vào quy trình xử lý mẫu, nhưng trong AOAC 2012.22 thì không sử dụng chất khử này. Dựa vào hai quy trình trên, nhóm tác giả sẽ cải tiến việc xử lý mẫu trong quy trình định lượng vitamin C trong nền mẫu trái cây và sữa bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép nối đầu dò UV (HPLC – UV).

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất và nguyên liệu

Các hóa chất được sử dụng đều ở dạng tinh khiết, bao gồm: Kali dihydro photphat (Merck); Tetra-N-Butyl amoni hydro sunfat 99% (Merck); Axit photphoric 85% (Merck hoặc tương đương); Axit triclo axetic (Merck); L-Cystein (Merck); Natri hydroxit (Merck); Axit sunfuric (Merck); Axit ascorbic (Merck). Các mẫu sữa bột, sữa nguyên liệu, trái cây gồm xoài, ổi, chuối được mua tại chợ mua tại hệ thống siêu thị.

2.2. Thiết bị và các dụng cụ khác

- Thiết bị HPLC Agilent 1260 đầu dò UV-Agilent probe
- Cân phân tích.
- Máy ly tâm.
- Máy lắc Vortex.
- Bộ lọc dung môi tương thích với giấy lọc 0.45 μ m.
- Bộ lọc nhựa 0.45 μ m.
- Ống ly tâm nhựa 15 mL có nắp đậy (ISO-LAB)
- Pipet vạch (CCX A): 5mL, 10mL, 20mL.
- Pipet bầu (CCX A): 5mL, 10mL, 20mL.
- Dụng cụ thủy tinh các loại: đĩa thủy tinh, becher, erlen (ISO-LAB).
- Micropipet 1mL và 200 μ L.
- Vial nâu thủy tinh 1.5 mL có nắp đậy

2.3. Thẩm định phương pháp phân tích

2.3.1. Điều kiện pha động

Hòa tan 13,6g kali dihydro photphat trong 900 mL nước đựng trong cốc có mỏ. Lọc qua bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μ m (dung dịch A). Hòa tan 1,82 g N-cetyl-N,N,N-trimetyl amoni bromua trong 100 mL metanol đựng trong cốc có mỏ. Trộn kỹ rồi lọc qua bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μ m (dung dịch B).

Pha tĩnh là cột C18: 150 $\times$ 4,6 mm, kích thước hạt 5 μ m. Pha động là dung dịch A+ dung dịch B, tốc độ dòng 0,7 mL/min, thể tích tiêm mẫu là 30 μ L, đầu dò UV ở bước sóng 265 nm.

2.3.2. Thẩm định phương pháp

Xác định LOD, LOQ

Để xác định giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp, mẫu trái cây, sữa được thêm chuẩn Vitamin C ở mức 3 mg/L. Phép đo được thực hiện lặp lại 5 lần để xác định giá trị độ lệch chuẩn SD.

Giới hạn phát hiện theo phương pháp (LOD được tính theo công thức) $LOD = SD \cdot t$, và Giới hạn định lượng (LOQ) được tính theo công thức $LOQ = 3 \cdot LOD$

Trong đó: SD là độ lệch chuẩn của kết quả phân tích từ các mẫu thêm chuẩn.

Khảo sát khoảng tuyến tính của Vitamin C

Trong phân tích định lượng, việc khảo sát khoảng tuyến tính để xây dựng đường chuẩn là một trong những yêu cầu đầu tiên của phương pháp phân tích. Hàm lượng chất phân tích trong mẫu thực được xác định bằng phương trình hồi qui tuyến tính của đường chuẩn. Pha dãy chuẩn với 10 nồng độ pha khác nhau từ 0.1 đến 100 mg/L trên nền mẫu thật, sau đó thực hiện quy trình như phần 2.3 để xây dựng đường chuẩn.

Hiệu suất thu hồi, độ lặp lại

Hiệu suất thu hồi của phương pháp được xác định bằng kỹ thuật thêm chuẩn. Để xác định hiệu suất thu hồi của phương pháp, nồng độ Vitamin C được thêm vào mẫu ở hai nồng độ 20.0 mg/L và 100 mg/L. Mẫu được xử lý và đo đạc như phần 2.3. Hiệu suất thu hồi (H) được xác định theo công thức:

$$\%H = \frac{C_{Re} - C_m}{C_c} \cdot 100$$

Trong đó:

C_{Re} : nồng độ của mẫu + nồng độ của chuẩn thêm vào

C_m : nồng độ của mẫu phân tích

C_c : nồng độ của chuẩn thêm vào

Độ lặp lại.

Xác định độ lặp lại của phương pháp của các lần đo cho từng chỉ tiêu. Mỗi một chỉ tiêu phân tích phải được lặp lại ít nhất 03 lần, phải được tính kết quả theo xử lý thống kê. Kết quả sau khi được chấp nhận phải được trình bày theo hàm lượng trung bình và độ tin cậy (khoảng tin cậy). Để thử nghiệm độ lặp lại của phương pháp, tiến hành phân tích mẫu trong nền mẫu. Độ lặp lại của kết quả thu được thông qua độ lệch chuẩn.

2.4. Quy trình chuẩn mẫu xác định hàm lượng vitamin C trong trái cây và sữa.

Trong tự nhiên, vitamin C tồn tại ở hai dạng: dạng acid ascorbic và acid dehydroascorbic. Do đó, để xác định đúng tổng hàm lượng vitamin C chúng tôi dùng chất khử L-Cystein để chuyển acid dehydroascorbic về dạng acid ascorbic. Dựa trên các cơ sở lý thuyết và thực nghiệm, chúng tôi đề xuất quy trình xử lý mẫu xác định hàm lượng vitamin C trong trái cây và sữa trên thiết bị HPLC-UV như sau: Cân 3.0 g mẫu trái cây (hoặc 5.0 gam sữa), thêm 50 mL TCA 0.1%, lắc trong thời gian 5 phút rồi lọc. Rút 20 ml dịch lọc cho vào ống ly tâm, thêm vào L-Cystein, điều chỉnh pH bằng dung dịch NaOH đến giá trị thích hợp, rồi lắc. Tiếp tục điều chỉnh pH về giá trị 2.5-2.8 bằng dung dịch H_2SO_4 1%. Chuyển vào bình định mức 50 mL và định mức tới vạch. Lọc qua màng 0.45 μm . Sau đó phân tích bằng thiết bị HPLC-UV.

2.5. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến độ bền của vitamin C

2.5.1. Khảo sát ảnh hưởng của dung dịch chiết: Acid phosphoric (H_3PO_4) và Acid trichloro acetic (TCA) đến độ bền của vitamin C.

Tiến hành phân tích chuẩn vitamin C 10 mg/L trong dung dịch H_3PO_4 có nồng độ lần lượt 0.05%, 0.1% và 0.5% ở các mốc thời gian 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ và 4 giờ trên thiết bị HPLC-UV. Tiến hành tương tự với dung dịch TCA có nồng độ lần lượt 0.05%, 0.1% và 0.5% ở các mốc thời gian 1 giờ, 2 giờ, 3 giờ và 4 giờ trên thiết bị HPLC-UV.

2.5.2. Khảo sát độ bền của vitamin C khi có mặt L- Cystein.

L- Cystein là một chất có tính khử mạnh, có thể đóng vai trò làm chất hy sinh để bảo vệ vitamin C. Do đó, tiến hành thêm L-Cystein vào quy trình để kiểm tra thời gian bền của vitamin C. Tiến hành phân tích chuẩn vitamin C 10 mg/L được pha trong dung dịch TCA 0.1% chứa L-Cystein có nồng độ lần lượt 0.1%, 0.2% và 0.5%.

2.5.3. Khảo sát hàm lượng L-Cystein dùng để khử acid dehydroascorbic về acid ascorbic.

Cân khoảng 3 g ổi (5 g sữa) cho vào ống ly tâm 50 mL, thêm TCA 0.1% đến vạch 50 mL. Lắc mạnh 5 phút, sau đó lọc qua giấy lọc. Rút 20 mL dung dịch chiết vào ống ly tâm cho lần

lượt từ 0.2 mL, 0.5 mL, 1 mL, 2.5 mL, 5 mL, 10 mL dung dịch L- Cystein 16%. Chỉnh pH lên khoảng 7 bằng dung dịch NaOH 15%, lắc mạnh 10 phút. Tiếp tục chỉnh xuống pH 2.5-2.8 bằng dung dịch H₂SO₄ 1%. Sau đó chuyển vào bình định mức 50 mL, định mức tới vạch bằng nước cất, lọc qua màng lọc 0.45 µm vào vial. Phân tích trên thiết bị HPLC-UV.

2.5.4. Khảo sát pH để chuyển acid dehydroascorbic về acid ascorbic.

Cân khoảng 3 g ôi cho vào ống ly tâm 50 mL, thêm TCA 0.1% đến vạch 50 mL. Lắc mạnh 5 phút, sau đó lọc qua giấy lọc. Rút 20 mL dung dịch chiết vào ống ly tâm cho 1 mL dung dịch L- Cystein 16%. Chỉnh pH từ 2.5 – 9 bằng dung dịch NaOH 15%, lắc mạnh 10 phút. Tiếp tục chỉnh xuống pH 2.5-2.8 bằng dung dịch H₂SO₄ 1%. Sau đó chuyển vào bình định mức 50 mL, định mức tới vạch bằng nước cất, lọc qua màng lọc 0.45 µm vào vial. Phân tích trên thiết bị HPLC-UV.

2.5.5. Khảo sát thời gian khử của L-Cystein.

Cân khoảng 3 g ôi cho vào ống ly tâm 50 mL, thêm 50 mL TCA 0.1%. Lắc mạnh 5 phút, sau đó lọc qua giấy lọc. Rút 20 mL dung dịch chiết vào ống ly tâm cho 1 mL dung dịch L- Cystein 16%. Chỉnh pH từ 6-8 bằng dung dịch NaOH 15%, lắc mạnh từ 1 đến 30 phút. Tiếp tục chỉnh xuống pH 2.5-2.8 bằng dung dịch H₂SO₄ 1%. Sau đó chuyển vào bình định mức 50 mL, định mức tới vạch bằng nước cất, lọc qua màng lọc 0.45 µm vào vial. Phân tích trên thiết bị HPLC-UV.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả thẩm định phương pháp

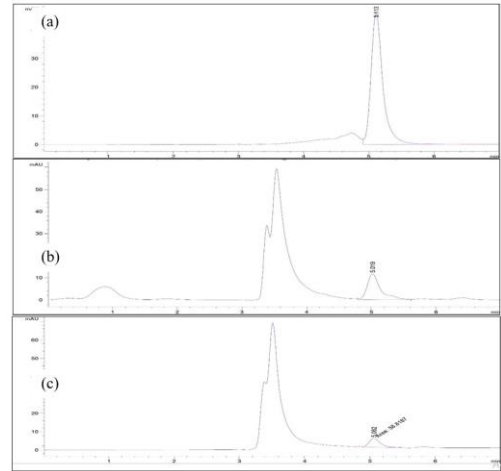
3.1.1. Xác định thời gian lưu của Vitamin C trên sắc kí đồ HPLC.

Hình 2 mô tả sắc kí đồ của Vitamin C trong các mẫu chuẩn (2a), mẫu sữa (2b) và mẫu trái cây (2c). Số liệu về thời gian lưu cho thấy giữa mẫu chuẩn và các mẫu thử lần lượt là 5,13 phút, 5,062 phút và 5,13 phút. Thời gian lưu của phép đo trong công trình này được rút ngắn khá nhiều so với quy trình định lượng mô

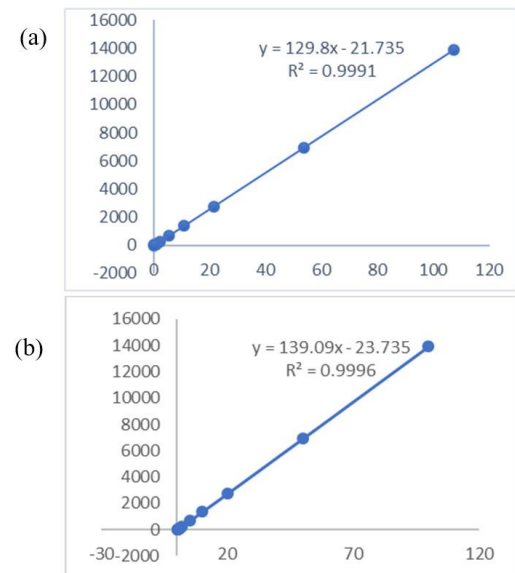
tả trong công trình của Liandong Hu và cộng sự [10]

3.1.2. Xây dựng đường chuẩn vitamin C

Khoảng tuyến tính của phép đo được thiết lập trong khoảng nồng độ từ nồng độ 0.50 đến 100 mg/L, phương trình hồi quy thu được có dạng $y = 129.8x - 21.735$ với hệ số tương quan $R^2 = 0.9991$ đối với nền mẫu sữa và $y = 139.09x - 23.735$ với hệ số tương quan $R^2 = 0.9996$ đối với nền mẫu trái cây (hình 3).



Hình 2. Sắc kí đồ của vitamin C trong mẫu chuẩn 4.0 mg/L (a); mẫu sữa nguyên liệu (b) và mẫu ôi (c)



Hình 3. Đồ thị biểu diễn sự tương quan tuyến tính của diện tích peak với nồng độ Vitamin C trong mẫu sữa (a) và trái cây (b).

Bảng 1. Các thông số đánh giá phương pháp phân tích vitamin C

Nền mẫu	Độ lặp lại % RSD	Hiệu suất thu hồi %H	Hàm lượng Vitamin C trong nền mẫu (mg/kg)	LOD, mg/kg	LOQ, mg/kg
Ổi	2.3	80	413	0.52	1.6
Chuối	4.9	78	29.0	0.33	1.0
Cam	0.3	84	194	0.32	1.0
Sữa nguyên liệu	3.8	86	10.2	0.42	1.3
Sữa thanh trùng	0.6	91	9.40	0.38	1.3

3.1.3. Xác định giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Kết quả khảo sát giá trị LOD, LOQ của phương pháp được thể hiện qua bảng 1. Qua kết quả cho thấy, độ nhạy của phương pháp khá tốt, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng rất nhỏ. Phương pháp HPLC-UV có thể phân tích vitamin C ở các nền mẫu có hàm lượng thấp.

3.1.4. Xác định hiệu suất thu hồi

Hiệu suất thu hồi của phương pháp đạt giá trị từ 87% đến 92%, đáp ứng được yêu cầu của AOAC về đánh giá hiệu suất thu hồi của phương pháp.

3.1.5. Xác định độ lặp lại

Độ lặp lại của phương pháp được thể hiện qua giá trị %RSD, được trình bày ở bảng 1. Trên các nền mẫu khác nhau thì RSD đều nhỏ hơn 5%. Các giá trị này đã đáp ứng được yêu cầu của AOAC[11] về đánh giá độ lặp lại của phương pháp.

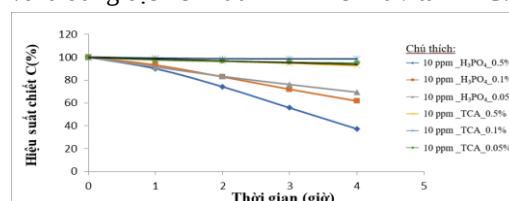
3.2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến độ bền của vitamin C trong trái cây.

3.2.1. Ảnh hưởng của nồng độ axit trong dung dịch chiết

Kết quả khảo sát được thể hiện ở đồ thị hình 4 cho thấy được hàm lượng vitamin C khi chiết với TCA và H₃PO₄ ở nồng độ lần lượt là 0.5%, 0.1%, 0.05%, sau khoảng thời gian từ 0 giờ đến 4 giờ như sau:

- Trong 1 giờ đầu thì vitamin C được lưu giữ tốt trong dịch chiết TCA, còn trong H₃PO₄ thì có xu hướng giảm.
- Trong 4 giờ tiếp theo, thì hàm lượng Vitamin C trong TCA có giảm nhưng vẫn còn trên 93% ở tất cả các nồng độ. Trong khi đó, đối với H₃PO₄ thì hàm lượng Vitamin C giảm đi đáng

kể. Đặc biệt, H₃PO₄ ở nồng độ 0.5% thì Vitamin C chỉ còn dưới 40%; vì vậy, TCA 0.1 % là dung dịch chiết tối ưu để chiết vitamin C.



Hình 4. Biểu đồ thể hiện sự tương quan thời gian chiết, dung dịch chiết với hiệu suất thu được

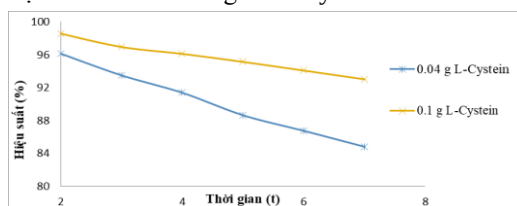
3.2.2. Độ bền của vitamin C khi có mặt L-Cystein

Kết quả khảo sát ở đồ thị hình 4 cho thấy sự có mặt L-Cystein đã làm cải thiện đáng kể độ bền của Vitamin C. Hàm lượng L-Cystein càng lớn thì độ bền của vitamin C càng cao. Ở nồng độ L-Cystein 0.1% thêm vào thì sau 7 giờ hàm lượng vitamin C vẫn đạt trên 92% so với ban đầu. Vì vậy, TCA 0.1% với hàm lượng L-Cystein 0.1 % là điều kiện tối ưu để vitamin C bền nhất.

3.2.3. Khảo sát hàm lượng L-Cystein dùng để khử axit dehydroascorbic về axit ascorbic

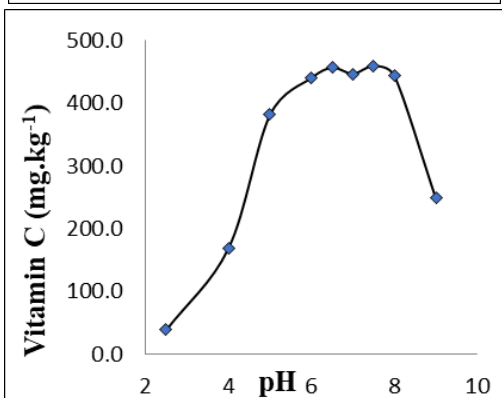
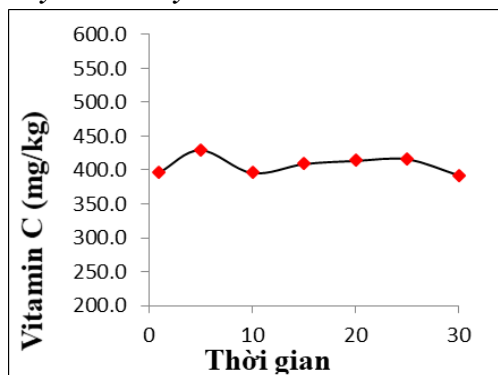
Đồ thị hình 4 cho ta thấy khi có mặt L-Cystein hàm lượng vitamin C thay đổi không đáng kể. Ở nồng độ 0.04% L-Cystein thì sự thất thoát Vitamin C sau 7h là 15%, còn ở nồng độ 0.1% L-Cystein thì sau 7h, độ hao hụt chỉ khoảng 8%. Ở những nồng độ L-Cystein cao hơn, thì sự hao hụt giảm khoảng 5-7%. Tuy nhiên, để đảm bảo hiệu quả, an toàn cho cột sắc kí và giảm được chi phí thì nồng độ 0.1% của L-Cystein là tối ưu. Kết quả thu được cũng tương tự khi áp dụng cho nền mẫu sữa lỏng. Số liệu khảo sát cho thấy, hàm lượng vitamin C trong cùng một loại sữa khi có mặt

L-Cystein trong quy trình phân tích thì cho giá trị cao hơn khi không có L-Cystein



Hình 5. Ảnh hưởng của hàm lượng L-Cystein đến hiệu suất chuyển hóa axit dehydroascorbic thành axit ascorbic trong mẫu ổi

3.2.4. Ảnh hưởng của pH để L-Cystein chuyển axit dehydroascorbic về axit ascorbic



Hình 6. (a) Ảnh hưởng của pH tới hàm lượng vitamin C trong mẫu ổi khi có mặt L-Cystein 0.1%, (b) ảnh hưởng của thời gian khử và hàm lượng vitamin C trong nền mẫu ổi, nồng độ 0.1% L-Cystein, pH 6÷8.

Đồ thị hình 6a cho thấy khi xử lý mẫu ổi ở pH thấp, hàm lượng vitamin C rất thấp. Khi tăng giá trị pH từ 6 đến 8 thì hàm lượng vitamin C đạt giá trị cực đại. Vì vậy chọn pH trong khoảng 6 ÷ 8 là khoảng pH khử phù hợp để L-Cystein chuyển axit dehydroascorbic về axit ascorbic. Kết quả thu được cũng tương tự với mẫu sữa và các loại trái cây khác.

Bảng 2. Kết quả phân tích hàm lượng Vitamin C trong mẫu thực tế

STT	Loại mẫu	Hàm lượng (mg/kg)*
1	Ổi Đài Loan	413 ± 14.9
2	Ổi Ruột Đỏ	1165 ± 89.4
3	Ổi Nữ Hoàng	483 ± 28.3
4	Chuối Già	29.0 ± 2.9
5	Chuối Sứ	119 ± 10.8
6	Chuối Cau	114 ± 9.4
7	Cam Sành	194 ± 10.4
8	Cam Xoàn	321 ± 13.4
9	Sữa nguyên liệu	10.2 ± 9.2
10	Đà Lạt Milk	9.4 ± 1.2
11	Củ Chi Milk	8.3 ± 0.9
12	Sữa Bột GIGO CARE	495 ± 31.2
13	Sữa Vinamilk	92.5 ± 22.6
14	Sữa TH- True milk	5.1 ± 0.7

*Giá trị trung bình sau 3 lần đo

3.2.5. Khảo sát thời gian cần thiết để L-Cystein chuyển acid dehydroascorbic về acid ascorbic.

Hình 6b cho thấy sự phụ thuộc hàm lượng Vitamin C vào thời gian có mặt của L-cystein. Tại thời điểm 5 phút thì hàm lượng Vitamin C cao nhất. Như vậy, để rút ngắn thời gian phân tích và hiệu suất thu hồi cao nhất, thì khoảng thời gian này là tối ưu để thực hiện các khảo sát đánh giá.

3.3. Phân tích vitamin C trong các mẫu thực tế

Áp dụng quy trình phân tích đề xuất, chúng tôi tiến hành phân tích hàm lượng Vitamin C trong nhiều mẫu thực khác nhau. Kết quả trình bày ở bảng 2 cho thấy hàm lượng vitamin C ở ổi Ruột Đỏ cao nhất với 1165 mg/kg, thấp nhất là ổi Đài Loan chỉ chứa 412.5 mg/kg.

Bảng 2 cũng cho thấy vitamin C trong cam Xoàn cao hơn gấp hai lần so với cam Sành. Hàm lượng vitamin C có trong cam phụ thuộc rất nhiều vào các yếu tố bên ngoài như (thời gian, nhiệt độ bảo quản, khí hậu vùng trồng ...). Điều đó, càng chứng minh rõ cho chúng ta thấy được nhiệt độ và cách bảo quản và môi

trường xung quanh cũng có tác động lớn về hàm lượng vitamin C. Kết quả phân tích cũng cho thấy hàm lượng vitamin C trong 3 loại chuối có sự khác biệt lớn. Cụ thể là chuối Sứ có hàm lượng vitamin C cao nhất là 119.1 mg/kg, hàm lượng vitamin C trong chuối Già thấp nhất là 29.0 mg/kg.

Vitamin C có trong sữa bột nhiều nhất, kế tiếp là sữa tiệt trùng Vinamilk và thấp nhất là trong sữa tiệt trùng TH-True milk, còn lại tương đương nhau. Điều này có thể giải thích rằng sữa sau khi trải qua quá trình gia nhiệt thì hàm lượng vitamin C sẽ giảm. Cụ thể sau quá trình thanh trùng sẽ giảm 10% còn khi xử lý với nhiệt độ tiệt trùng so với sữa bò nguyên liệu thì hàm lượng này giảm khoảng 50% so với ban đầu.

4. KẾT LUẬN

Đã thẩm định quy trình định lượng Vitamin C bằng phương pháp HPLC với đầu dò UV. Chất khử L-Cystein đã được sử dụng để bảo vệ Vitamin C trong quá trình phân tích. Quy trình định lượng có độ lặp lại, độ thu hồi cao. Khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp đã được khảo sát. Các số liệu thu được đã chứng tỏ đây là quy trình phù hợp để định lượng Vitamin C trong trái cây và sữa. Trên cơ sở đó, quy trình trên được áp dụng để định lượng Vitamin C trong 14 mẫu trái cây và sữa khác nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Amitava Dasgupta Kimberly Klein Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements, 1 st. Elsevier B.V, (2014).
2. Smirnoff N, Ascorbic acid metabolism and functions: A comparison of plants and mammals. *Free Radic Biol Med* 122:116–129, (2018).
3. KC S, Càrcamo JM, Golde DW, Vitamin C enters mitochondria via facilitative glucose transporter 1 (Gluti) and confers mitochondrial protection against oxidative injury. *FASEB J* 19:1657–1667, (2005).
4. Traber MG, Stevens JF, Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radic Biol Med* 51:1000–13, (2011).

5. Morrissey PA, Hill TR, Fat-Soluble Vitamins and Vitamin C in Milk and Milk Products. In: *Advanced Dairy Chemistry*. Springer New York, New York, NY, pp 527–589, (2009).
6. Robitaille L, Hoffer LJ, A simple method for plasma total vitamin C analysis suitable for routine clinical laboratory use. *Nutr J* 15:40, (2015).
7. Baenas N, Salar FJ, Domínguez-Perles R, García-Viguera C, New UHPLC-QQQ-MS/MS method for the rapid and sensitive analysis of ascorbic and dehydroascorbic acids in plant foods. *Molecules* 24:1–10, (2019).
8. TCVN 8977: 2011 Xác định vitamin C bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), (2011).
9. AOAC Official Method 2012.22 Vitamin C in Infant Formula and Adult/Pediatric Nutritional Formula Ultra-Performance, (2012).
10. Hu L, Li L, Luo Z, et al, Determination of Trace Vitamin C by Ion-Pair HPLC with UV Detection in Calcium Gluconate and Vitamin C Compound Oral Solution. *J Chromatogr Sci* 50:102–107, (2012).
11. AOAC- Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, (2002).