



XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI GLUCOSAMIN VÀ CANXI TRONG THỰC PHẨM CHỨC NĂNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MAO QUẢN SỬ DỤNG DETECTOR ĐO ĐỘ DẪN KHÔNG TIẾP XÚC CE-C⁴D

Nguyễn Quang Huy^{1*}, Nguyễn Thị Hồng Hạnh¹, Nguyễn Linh Trang², Đỗ Yến Nhi², Kiều Thị Lan Phương², Đặng Thị Huyền My², Nguyễn Thị Ánh Hoàng^{2*}

Tổng Biên tập:
TS. Nguyễn Phương Sinh

Ngày nhận bài:
05/9/2023

Ngày chấp nhận đăng bài:
19/10/2023

Ngày xuất bản:
27/3/2024

Bản quyền: © 2024
Thuộc Tạp chí Khoa học và Công nghệ Y Dược

Xung đột quyền tác giả:
Tác giả tuyên bố không có bất kỳ xung đột nào về quyền tác giả

Địa chỉ liên hệ: Số 284,
đường Lương Ngọc Quyến,
TP. Thái Nguyên,
tỉnh Thái Nguyên

Email:
tapchi@tnmc.edu.vn

1 Trường Đại học Y Dược, Đại học Thái Nguyên

2 Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

* Tác giả liên hệ: huydhyd@gmail.com

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Phương pháp điện di mao quản sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc (CE-C⁴D) với các ưu điểm như đơn giản, hiệu quả, chi phí thấp đã được nghiên cứu nhằm xác định glucosamin và canxi trong mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe. **Mục tiêu:** Xác định được glucosamin và canxi đồng thời trong thực phẩm chức năng bằng phương pháp điện di mao quản. **Phương pháp:** Điều kiện phân tích được lựa chọn bao gồm: Mao quản silica, tổng chiều dài 50 cm, chiều dài hiệu dụng là 35 cm, đường kính trong là 50 μ m; Dung dịch điện ly Ace 200 mM; Chiều cao bơm mẫu 10 cm; Thời gian bơm mẫu 20 s; Điện thế tách + 15 kV. **Kết quả:** Phương pháp thu được giới hạn phát hiện của canxi là 0,05 mg/L và glucosamin là 0,5 mg/L và giới hạn định lượng tương ứng là 0,17 mg/L và 1,67 mg/L. Đường chuẩn được xây dựng cho hệ số tương quan tuyến tính tốt ($R_2 > 0,999$). Độ lặp được đánh giá qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thí nghiệm lặp lại ($n = 6$) nhỏ hơn 3%, cho thấy phương pháp có độ lặp lại tốt. Độ thu hồi đạt giá trị từ 92,0% đến 106,0%. Phương pháp đã được áp dụng để xác định hàm lượng glucosamin và canxi trong 6 mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe. So với công bố trên nhãn, hàm lượng của chất phân tích được có sự sai khác nhỏ hơn 10%. **Kết luận:** Kết quả đã được phân tích đối chứng bằng phương pháp HPLC-PDA đối với glucosamin và phương pháp ICP-OES đối với canxi cho thấy sự tương đồng giữa hai phương pháp (Sai khác dưới 6,47%).

Từ khóa: Glucosamin; Canxi; CE-C⁴D; Thực phẩm chức năng

**DETERMINATION OF GLUCOSAMINE AND CALCIUM
IN FUNCTIONAL FOODS BY CAPILLARY
ELECTROPHORESIS USING CAPACITIVELY COUPLED
CONTACTLESS CONDUCTIVITY DETECTOR CE-C⁴D**

Nguyen Quang Huy^{1*}, Nguyen Thi Hong Hanh¹, Nguyen Linh Trang², Do Yen Nhi², Kieu Thi Lan Phuong², Dang Thi Huyen My², Nguyen Thi Anh Huong^{2*}

1 Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy

2 Vietnam National University of Science

ABSTRACT

Background: The quantification of glucosamine and calcium in dietary supplements was investigated by using capillary with capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C⁴D).

Objectives: Determination of glucosamine and calcium in functional food by capillary electrophoresis.

Methods: Optimal conditions included fused silica capillary inner diameter (ID) 50 μm and total length of 50 cm (effective length of 35 cm); electrophoresis buffer solution 200 mM Ace; sample injection height 10 cm; sample injection time 20 s; separation voltage + 15 kV. **Results:** The limit of detection (LOD) for calcium was 0.05 mg/L and glucosamine was 0.5 mg/L; the limit of quantification (LOQ) were 0.17 mg/L and 1.67 mg/L, respectively. Calibration curve was constructed giving a good linear correlation coefficient ($R^2 > 0.999$). The relative standard deviation (RSD) was less than 3% ($n = 6$) and the recovery efficiency ranged from 92.0% to 106.0% which indicated good precision and trueness of our method. The method was applied to determine glucosamine and calcium in 6 dietary supplement samples randomly collected at the local markets. **Conclusions:** The CE-C⁴D results were compared with those obtained by reference HPLC-PDA method and ICP-OES method, showing good agreement between the methods (relative error < 6.47%).

Keywords: Glucosamine; Calcium; CE-C⁴D; Dietary supplement

ĐẶT VẤN ĐỀ

Glucosamin và canxi là hai hoạt chất quan trọng được sử dụng từ lâu cho sự phát triển của hệ xương khớp, liên kết chung của hai chất

cung cấp sự toàn vẹn cho cấu trúc xương. Glucosamin là một amino-monosaccharide và là nguyên liệu để tổng hợp glycosaminoglycan- chất có vai trò quan trọng cấu tạo nên mô sụn, mô xương khớp và các chất khác liên quan đến tạo gân, dây chằng, lớp dịch nhầy ở khớp¹. Khi đi vào cơ thể, glucosamin có tác dụng kích thích các tế bào ở sụn khớp tăng tổng hợp và trùng hợp tạo nên cấu trúc proteoglycan bình thường. Ngoài ra, glucosamin cũng đồng thời ức chế các enzym phá hủy sụn khớp như collagenase, phospholipase A2 và giảm các gốc tự do superoxide phá hủy tế bào sinh sụn, kích thích sản sinh mô liên kết của xương, giảm mất canxi ở xương. Glucosamin còn làm tăng sản xuất chất nhầy dịch khớp nên giúp giảm ma sát giữa các khớp và giảm đau^{2,3}.

Canxi là một khoáng chất quan trọng và cần thiết trong quá trình hình thành, cấu tạo khung xương. Khoảng 98% lượng canxi trong cơ thể tập trung ở xương và răng. 2% phân bố trong máu để thực hiện các chức năng thần kinh cơ, đông máu. Canxi được hấp thu vào cơ thể thông qua thực phẩm hằng ngày bao gồm các sản phẩm từ sữa, cải xoăn, bông cải xanh, các loại hạt⁴... Tuy nhiên, con người thường không cung cấp đủ lượng canxi cần thiết cho cơ thể gây nên sự thiếu hụt canxi, ảnh hưởng tới các hoạt động của cơ thể⁵.

Glucosamin và canxi được bổ sung chủ yếu bằng các loại dược phẩm và thực phẩm chức năng với liều dùng từ 1250- 1500 mg/ ngày đối với glucosamin và 300-1500 mg/ ngày đối với canxi. Trên thị trường có rất nhiều sản phẩm thực phẩm chức năng bổ sung glucosamin và canxi được sản xuất trong nước, cũng như nhập khẩu từ nước ngoài như Nhật, Mỹ, Úc,... Tuy nhiên, chất lượng các sản phẩm này có đúng như những gì ghi trên bao bì hay không điều này đòi hỏi phải xây dựng và phát triển các phương pháp phân tích hoạt chất trong thực phẩm chức năng để đánh giá chất lượng sản phẩm.

Thông thường, glucosamin và canxi thường được phân tích độc lập do tính chất của hai hoạt chất khác nhau. Hiện nay, các phương pháp định tính, định lượng trong thực phẩm chức năng như phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)⁶⁻⁸, phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử (UV-Vis)^{9,10}, phương pháp điện di mao quản (CE)¹¹⁻¹⁴, ...thường được áp dụng để phân tích glucosamin. Phương pháp điện hóa¹⁵⁻¹⁷, phương pháp quang phổ nguồn plasma cảm ứng cao tần^{18,19}, ... được áp dụng để phân tích canxi. Tuy nhiên, hai hoạt chất thường được phối hợp với nhau trong mẫu thực phẩm chức

năng, do đó việc nghiên cứu sử dụng một quy trình phân tích đồng thời hai chất phân tích này là điều cần thiết. Phương pháp điện di mao quản tích hợp detector đo độ dẫn không tiếp xúc (CE-C⁴D) là phương pháp đơn giản, nhanh chóng với ưu điểm sử dụng ít lượng mẫu và hóa chất, thiết bị nhỏ gọn phù hợp với điều kiện nghiên cứu ở nước ta. Đồng thời, phương pháp CE-C⁴D có tiềm năng phân tích đồng thời hai chất glucosamin (Một chất hữu cơ) và canxi (Một loại khoáng chất) trong các mẫu thực phẩm chức năng.

PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng của nghiên cứu này gồm chất phân tích là glucosamin và canxi, mẫu thực phẩm chức năng (TPCN) dạng viên nang cứng hoặc viên nang mềm.

Hóa chất, chất chuẩn

Các hóa chất, chất chuẩn sử dụng trong nghiên cứu này đều thuộc loại tinh khiết bao gồm:

- Chất chuẩn: Glucosamin hydroclorid (Độ tinh khiết > 99%) được cung cấp từ hãng Sigma (Mỹ). Dung dịch chuẩn gốc 1000 ppm: Cân chính xác 0,025 gam chất chuẩn glucosamin hydroclorid, hòa tan bằng nước deion vào bình định mức 25 mL và định mức đến vạch. Dung dịch chuẩn Ca²⁺ 1000 mg/L (Merck, độ tinh khiết 98%)
- Các hóa chất khác: Tris (Fluka, Japan, >99%), Acid acetic (Merk, Đức, > 99%), L-Histidin (Fluka, Japan, >99%), Arginin (Fluka, Japan, >99%), nước deion là nước cất 2 lần được lọc qua bộ lọc siêu tinh khiết có cột trao đổi cation, anion và màng lọc 0,2μm.

Thiết bị

Thiết bị CE-C⁴D sử dụng trong nghiên cứu được cung cấp bởi Công ty 3S analysis (<http://www.3sanalysis.vn/>) trên cơ sở hợp tác với Bộ môn Hóa Phân tích (Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc Gia Việt Nam) và nhóm nghiên cứu của GS. Peter Hauser (Khoa Hóa, Trường Đại học Basel, Thụy Sĩ). Thiết bị có nguồn thế cao lên đến 25 kV, sử dụng cảm biến đo độ dẫn không tiếp xúc (C⁴D). Các thông tin về đặc điểm kỹ thuật của hệ thiết bị có thể tham khảo trong các công bố trước đây của nhóm nghiên cứu²⁰.

Máy ly tâm của hãng LCEN -200, máy rung siêu âm có gia nhiệt BRANSON 521, máy đo pH của hãng HANNA, tủ lạnh Sanaky VH-2899W, cân phân tích với độ chính xác 0,1mg.

Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu

Mẫu TPCN được mua ngẫu nhiên trên thị trường. Trên cơ sở tham khảo tài liệu và khảo sát thực tế, quy trình xử lý mẫu được lựa chọn như sau: Mẫu TPCN (Dạng viên nang) được tháo vỏ nang, lấy phần bên trong, nghiền mịn (Nếu cần). Mẫu dạng viên nén được nghiền mịn, trộn đều thành dạng bột đồng nhất. Cân chính xác một lượng mẫu trên cân phân tích (Độ chính xác 0,0001g). Thêm 25 mL dung dịch acid trichloroacetic (TCA) 4% vào rung siêu âm trong 30 phút và ly tâm trong 15 phút. Chuyển dung dịch thu được vào bình định mức 25 mL, định mức tới vạch bằng TCA 4%. Dung dịch được lọc qua màng lọc 0,45 μm và pha loãng (Nếu cần) trước khi tiến hành phân tích trên thiết bị CE-C⁴D.

Thẩm định quy trình phân tích

Tiến hành đánh giá phương pháp đã tối ưu thông qua các thông số cơ bản gồm: Đường chuẩn; Giới hạn phát hiện và định lượng; Độ chụm thông qua độ lặp lại và độ đúng thông qua độ thu hồi. Các kết quả được đánh giá so sánh với các quy định của AOAC.

Phương pháp xử lý số liệu

Xử lý các số liệu thống kê bằng phần mềm Microsoft Excel 2019. Hàm lượng glucosamin và canxi trong thực phẩm chức năng được tính bằng phương pháp thêm chuẩn.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Tối ưu điều kiện phân tích đồng thời glucosamin và canxi bằng CE-C⁴D

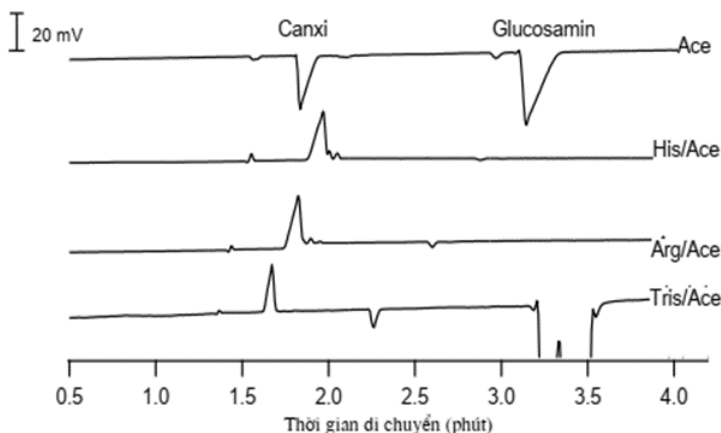
Khảo sát được thực hiện với hỗn hợp chất chuẩn tương ứng với nồng độ của canxi 20 mg/L và glucosamin 80 mg/L. Hệ thiết bị CE-C⁴D với cột mao quản có chiều dài 50 cm, chiều dài hiệu dụng 35 cm, đường kính trong 50 μm . Các điều kiện này được giữ nguyên trong tất cả các thí nghiệm. Các điều kiện khảo sát bao gồm: Dung dịch đệm điện ly (Thành phần dung dịch, nồng độ dung dịch), thể tích, thời gian bơm mẫu, chiều cao bơm mẫu. Việc khảo sát được thực hiện theo phương pháp đơn biến, thay đổi một thành phần

trong khi giữ nguyên các thành phần còn lại để thu được thông số phù hợp đáp ứng các yêu cầu phân tích.

Khảo sát dung dịch đệm điện ly

Khảo sát thành phần dung dịch đệm điện ly

Với công thức cấu tạo có sự xuất hiện của nhóm NH_2 ($\text{pK}_a = 7,58$) thì khi $\text{pH} < \text{pK}_a$ glucosamin tồn tại ở dạng cation (R-NH_3^+). Do đó, các dung dịch điện ly phân tích đồng thời glucosamin và canxi cần có pH dưới 7,0 nhằm đảm bảo các chất phân li hoàn toàn ở dạng cation. Khi đó, sẽ tiến hành phân cực dương để các chất phân tích chính là các cation sẽ di chuyển từ cực dương sang cực âm theo chiều của dòng EOF, do đó cả glucosamin và canxi sẽ xuất hiện trước EOF. Các hệ đệm điện ly được khảo sát có hợp phần bazơ là Arg, Tris, His kết hợp với hợp phần acid là acid acetic, đồng thời đệm acid acetic cũng được tiến hành khảo sát. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thành phần dung dịch điện ly được thể hiện trong Hình 1.



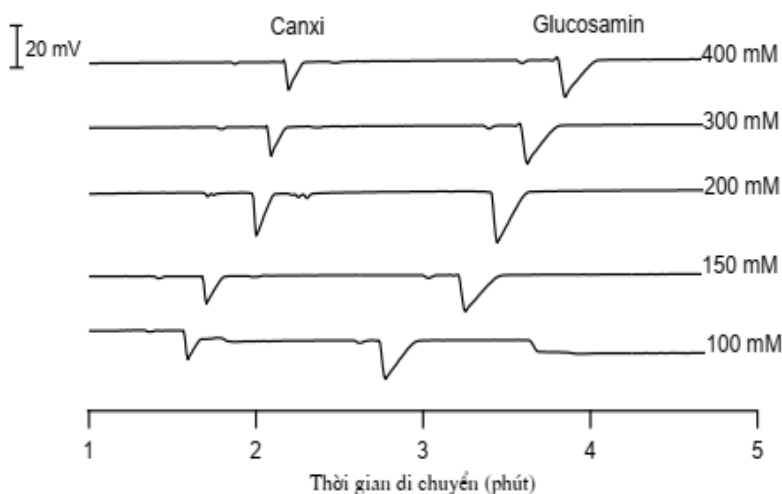
Hình 1. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của thành phần đệm điện ly

Kết quả cho thấy, dung dịch điện ly Ace cho tín hiệu pic của hai chất phân tích tốt nhất trong các hệ đệm, đường nền ổn định nên sẽ được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

Khảo sát nồng độ dung dịch đệm điện ly

Trong phương pháp CE, nồng độ của dung dịch điện ly phải đủ lớn để tạo nên môi trường điện ly ổn định. Tuy nhiên khi nồng độ quá lớn sẽ làm tăng thời gian di chuyển của chất phân tích do linh độ điện di hiệu dụng của các ion tăng lên. Việc khảo sát ảnh hưởng của nồng độ dung dịch điện ly Ace được thực hiện với các nồng độ

là 100 mM, 150 mM, 200 mM, 300 mM và 400 mM. Kết quả được thể hiện trong Hình 2.

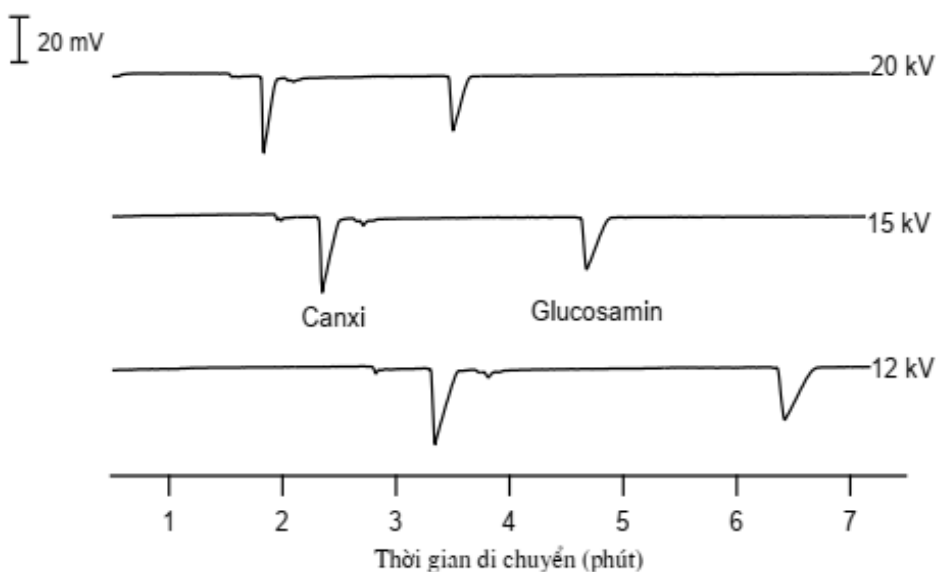


Hình 2 . Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của nồng độ đệm điện ly

Từ điện di đồ có thể nhận thấy, dung dịch điện ly Ace 200mM cho đường nền ổn định và pic đẹp, cân đối hơn so với đường nền của dung dịch Ace 100 mM. Đồng thời, diện tích peak của hai chất phân tích glucosamin và canxi tại dung dịch Ace 200 mM lớn nhất. Vì vậy, nồng độ dung dịch điện ly Ace 200 mM được sử dụng cho các khảo sát tiếp theo.

Khảo sát ảnh hưởng của thế tách

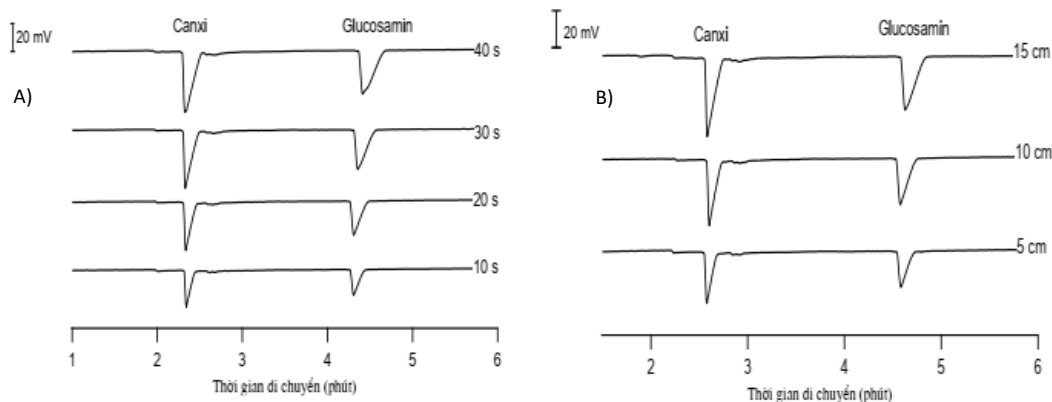
Quá trình điện di trong mao quản chỉ xảy ra khi có một nguồn thế tách cao. Thế này tạo ra lực điện trường và dòng điện trong mao quản, điều khiển, duy trì và là một yếu tố quan trọng quyết định kết quả điện di các chất phân tích. Vì thế, để có một kết quả điện di tốt và ổn định, phải chọn được giá trị thế V thích hợp nhất, không chế và giữ cho giá trị thế V này không đổi trong suốt quá trình điện di²¹. Việc khảo sát thế tách đồng thời glucosamin và canxi được thực hiện ở +12 kV, +15 kV và +20kV. Kết quả khảo sát được thể hiện trong Hình 3 cho thấy khi áp thế từ +12 kV đến +20 kV, các chất phân tích có thời gian di chuyển nhanh hơn. Tại thế +20 kV, tín hiệu của đường nền thu được bị nhiễu và diện tích pic của các chất phân tích thấp hơn thế +15 kV. Với thế +12 kV, chân pic của glucosamin không được cân đối, doãng chân và thời gian phân tích các chất bị kéo dài không cần thiết. Do đó, thế tách +15 kV được lựa chọn là phù hợp cho phép phân tích.



Hình 3. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của thể tách

Khảo sát chiều cao bơm mẩu và thời gian bơm mẩu

Trong phương pháp bơm mẩu thủy động học kiểu xi phong, lượng mẩu bơm vào tỷ lệ thuận với chiều cao bơm mẩu và thời gian bơm mẩu²¹. Trong quá trình nạp mẩu vào mao quản, lượng mẩu bơm vào phải đủ lớn để đảm bảo độ nhạy và khả năng tách tốt. Chiều cao bơm mẩu càng cao thì sự chênh lệch về chiều cao của hai ống đầu mao quản càng lớn dẫn tới lượng mẩu bơm vào mao quản càng nhiều. Tương tự chiều cao bơm mẩu, nếu thời gian bơm mẩu càng lớn thì lượng mẩu bơm vào mao quản càng lớn. Tuy nhiên nếu lượng mẩu được bơm vào mao quản quá lớn thì sự phân tán mẩu sẽ lớn, khi đó khả năng tách chất bị giảm. Do đó cần khảo sát nhằm chọn ra chiều cao và thời gian bơm mẩu thích hợp để đảm bảo thu được tín hiệu lớn nhất mà chân pic không bị dẫn rộng. Các thời gian bơm mẩu được khảo sát (Khi giữ nguyên chiều cao bơm mẩu 15 cm) là 10 s, 20 s, 30 s và 40 s. Các chiều cao bơm mẩu được lựa chọn khảo sát (Khi giữ nguyên thời gian bơm mẩu 20 s) gồm: 5 cm, 10 cm và 15 cm. Kết quả thu được thể hiện ở Hình 4.



Hình 4. Điện di đồ khảo sát ảnh hưởng của A) Chiều cao bom mẫ; B) Thời gian bom mẫ

Kết quả thu được trong hình 4A và 4B cho thấy các giá trị chiều cao và thời gian bom mẫ tối ưu được lựa chọn cho kết quả tín hiệu đủ lớn, ổn định là 10 cm và 20 s.

Thẩm định quy trình phân tích

Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Tiến hành pha 6 dung dịch có nồng độ biến thiên trong khoảng 0,5-100,0 mg/L đối với canxi và 2,0- 100,0 mg/L đối với glucosamin dùng để dựng đường chuẩn được pha loãng từ dung dịch chuẩn gốc. Mỗi dung dịch được đo trên hệ điện di 3 lần và tiến hành theo các điều kiện đã tối ưu ở Bảng 1. Giá trị pic trung bình của các lần đo lặp lại là số liệu để dựng đường chuẩn sự phụ thuộc điện tích pic vào nồng độ. Các kết quả được trình bày trong Bảng 1.

Bảng 1. Phương trình đường chuẩn của canxi và glucosamin

Tên chất	Phương trình đường chuẩn ($y=a+bx$)	R	p
Canxi	$y = (20,4734 \pm 0,7883) + (4,0966 \pm 0,0169)x$	0,99993	< 0,001
Glucosamin	$y = (0,3003 \pm 0,3905) + (1,2329 \pm 0,0083)x$	0,99982	< 0,001

Kết quả Bảng 1 cho thấy, các hệ số tương quan biểu diễn sự phụ thuộc của diện tích pic vào nồng độ chất phân tích là khá tốt ($R \geq 0,9998$), đồng thời các giá trị $p < 0,05$ với cả hai chất chứng tỏ x và y có quan hệ tuyến tính.

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Để xác định giá trị LOD, dùng hỗn hợp dung dịch chuẩn glucosamin tiến hành pha loãng dần cho đến khi thu được tín hiệu gấp 3 lần so với nhiễu đường nền ($S/N=3$). Kết quả thu được giới

hạn phát hiện đối với canxi là 0,05 mg/L và glucosamin là 0,50 mg/L. Từ đó, giới hạn định lượng của glucosamin và canxi tương ứng là 0,17 mg/L và 1,67 mg/L.

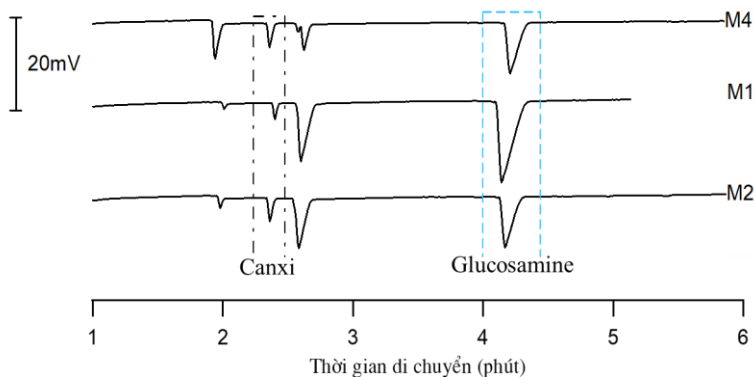
Độ chụm và độ đúng

Độ chụm của phương pháp được đánh giá thông qua độ lặp lại và độ đúng của phương pháp được đánh giá thông qua hiệu suất thu hồi, bao gồm cả xử lý và đo mẫu phân tích. Việc đánh giá được thực hiện với mẫu trắng có thành phần nền giống với mẫu thực nhưng không chứa chất phân tích. Độ lặp của glucosamin được đánh giá ở 3 mức nồng độ 5 ppm, 20 ppm và 50 ppm; Canxi ở 3 mức nồng độ 0,5 ppm, 10 ppm và 50 ppm. Mỗi mức nồng độ được tiến hành với 3 lần bơm mẫu độc lập. Việc đánh giá độ thu hồi được tiến hành thêm chuẩn ở 3 mức 50 ppm, 100 ppm và 200 ppm vào nền mẫu trắng và xử lý mẫu như quy trình như trên. Kết quả thu được trình bày trong Bảng phụ lục PL1.

Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn tương đối (RSD) thu được đều nhỏ hơn 5%. Độ thu hồi của canxi nằm trong khoảng 97,2-106,0% và glucosamin trong khoảng 92,0-103,5%. Như vậy, phương pháp có độ lặp lại và độ thu hồi đáp ứng theo yêu cầu của AOAC (Với nồng độ trong khoảng 0,5-100,0 mg/L, độ thu hồi và độ lệch chuẩn tương đối lần lượt nằm trong khoảng 80-110% và nhỏ hơn 7,3%)²².

Kết quả phân tích mẫu thực tế

Áp dụng quy trình thu được ở trên để phân tích glucosamin và canxi trong 6 mẫu TPCN được mua ngẫu nhiên tại các nhà thuốc trên địa bàn Hà Nội. Mẫu được xử lý theo khảo sát khoảng tuyến tính.



Hình 5. Điện di đồ phân tích glucosamin trong một số mẫu thực phẩm chức năng

Điện di đồ của các mẫu được minh họa trong Hình 5, hàm lượng glucosamin và canxi trong các mẫu thu được như trong Bảng phụ lục PL2. Kết quả phân tích cho thấy, hàm lượng các dạng glucosamin trong thực phẩm chức năng được tìm thấy với hàm lượng dao động trong khoảng từ 111,0 mg/viên đến 504,0 mg/viên còn hàm lượng canxi dao động trong khoảng từ 4,5 mg/viên đến 49,4 mg/viên. So với công bố trên nhãn, hàm lượng glucosamin phân tích được có sự sai khác trong khoảng từ -5,26% đến +8,09% còn hàm lượng canxi phân tích được sai khác từ -2,50% đến +5,20%. So với phương pháp đối chứng, hàm lượng glucosamin và canxi phân tích được có sự sai khác trong khoảng từ -6,47% đến +6,47% (Phụ lục 3).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã thành công trong việc ứng dụng phương pháp CE-C⁴D nhằm xác định đồng thời hàm lượng glucosamin và canxi trong mẫu thực phẩm chức năng. Phương pháp đã được thẩm định về độ tuyến tính trong khoảng đường chuẩn, độ chụm và độ đúng đáp ứng yêu cầu AOAC. Kết quả phân tích hàm lượng glucosamin và canxi trong 6 mẫu thực phẩm chức năng đã được đối chứng với phương pháp HPLC-FLD (Đối với glucosamin) và ICP-OES (Đối với canxi) cho sai số tương đối giữa hai phương pháp dưới 6,47%. Như vậy, kết quả phân tích là đáng tin cậy, có tiềm năng áp dụng để xác định đồng thời glucosamin và canxi trong thực phẩm chức năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. J. W. Anderson, R. J. Nicolosi, and J. F. Borzelleca, “Glucosamin effects in humans: a review of effects on glucose metabolism, side effects, safety considerations and efficacy”, *Food and Chemical Toxicology* **vol. 43**, no. 2, pp. 187- 201, (2005).
2. Jean-Yves Reginster & cộng sự, “Role of glucosamin in the treatment for osteoarthritis”, *Rheumatol Int* **vol. 32**, pp. 2959–2967, (2012).
3. J. Y. Reginster & cộng sự, “Long-term effects of glucosamin sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebo-controlled clinical trial”, *The Lancet* **vol. 357**, no. 9252, pp. 251-256, (2001).
4. Brini M., Ottolini D., Cali T., Carafoli E., Chapter 4. Calcium in Health and Disease, Interrelations between Essential Metal Ions

and Human Diseases. *Metal Ions in Life Sciences*, Astrid Sigel Helmut Sigel, Roland K. O. Sigel ed (2013).

5. Kelvin Li, Xia-Fang Wang, & cộng sự, "The good, the bad, and the ugly of calcium supplementation: a review of calcium intake on human health", *Clinical Interventions in Aging* **28**, pp. 2443-2452 (2018).

6. Phạm Thị Mai Hương & cộng sự, "Xác định glucosamine trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector huỳnh quang (HPLC-FLD)", *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm* **5(1)**, tr.11-24 (2020).

7. Alcázar M.A., Wrobel K., & cộng sự, "Fast determination of glucosamine in pharmaceutical formulations by high performance liquid chromatography without pre-Column derivatization", *Acta universitaria* **24**, pp.16-22 (2020).

8. Harmita H., Jatmika C., Nugraha M. I., "Determination of levels of glucosamine hydrochloride and chondroitin sulfate in mixtures in tablet and cream forms using high-performance liquid chromatography with fluorescence", *International Journal of Applied Pharmaceutics* **9**, pp.144- 149 (2017).

9. Gaonkar P.& cộng sự, "Spectrophotometric method for determination of glucosamine in tablets", *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* **68(1)**, pp.83-83 (2006).

10. Yamaguchi T. & cộng sự. "Spectrophotometric determination of glucosamine and its analogous amino sugars with o - hydroxyhydroquinonephthalein and palladium(II)", *Analytical Sciences* **20(2)**, pp.387- 389 (2004).

11. Chaisuwan P. & cộng sự. "Direct injection of human serum and pharmaceutical formulations for glucosamine determination by CE-C4D method", *Journal of Chromatography B* **879(23)**, pp.2185- 2188 (2011).

12. Chen J.J. & cộng sự. "Determination of Glucosamine Content in Nutraceuticals by Capillary Electrophoresis Using In-Capillary OPA Labeling Techniques", *Journal of Food and Drug Analysis* **14(2)**, pp.203- 206 (2006).

13. Jáč P. & cộng sự. "Fast assay of glucosamine in pharmaceuticals and nutraceuticals by capillary zone electrophoresis with contactless conductivity detection", *Electrophoresis* **29**, pp.3511- 3518 (2008).

14. Volpi N. "Capillary electrophoresis determination of glucosamine in nutraceutical formulations after labeling with anthranilic acid and UV detection", *J. Pharm Biomed Analytical* **49(3)**, pp.868- 871 (2009).
15. Almeida J. M. S. & cộng sự. "A simple electroanalytical procedure for the determination of calcium in biodiesel", *Fuel* **115**, pp.658- 665 (2014).
16. Fakayode O., Nkambule T. "Cyclic voltammetric determination of calcium in water in the presence of natural organic matter (humic acid) and Cu (II) at gold electrode's surface", *Food Chemistry Advances* **1**, pp.34-42 (2022).
17. Shamsipur M. & cộng sự. "The Synthesis of 1,4-Diaza-2,3;8,9-dibenzo-7,10-dioxacyclododecane-5,12-dione and Its Use in Calcium-Selective Carbon Paste Electrodes", *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **40**, pp.303- 307 (2011).
18. Abua Ikem, Alwell Nwankwoala, & cộng sự. "Levels of 26 elements in infant formula from USA, UK, and Nigeria by microwave digestion and ICP–OES", *Food Chemistry* **77(4)**, pp. 439-447 (2002).
19. Anna Krejcova & cộng sự. "Determination of macro and trace element in multivitamins preparations by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with slurry sample introduction", *Food Chemistry* **98**, pp. 171-178 (2006).
20. Thi Anh Huong Nguyen et. al, "Simple semi-automated portable capillary electrophoresis instrument with contactless conductivity detection for the determination of β -agonists in pharmaceutical and pig-feed samples", *Journal of Chromatography A* **1360**, pp. 305-311, (2014).
21. Phạm Luận, *Cơ sở lý thuyết của sắc ký điện di mao quản hiệu suất cao*, Giáo trình giảng dạy dành cho sinh viên chuyên ngành Hóa Phân tích, Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, Hà Nội (2005).
22. W.L.Deorge, "AOAC Official Methods of Analysis- Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements", *AOAC international, Arlington* (2012).

PHỤ LỤC

PL1. Độ lặp lại và độ thu hồi của phương pháp CE-C⁴D xác định glucosamin và canxi

Chất phân tích	Mức	Nồng độ thêm chuẩn (mg/L)	Nồng độ thu hồi trung bình (mg/L)	Độ thu hồi (%)	RSD (%) (n = 6)	Độ thu hồi trung bình (%)
Canxi	1	0,5	0,53	106,0	2,18	101,9
	2	10,0	9,72	97,2	1,85	
	3	50,0	51,3	102,6	1,81	
Glucosamin	1	5,0	4,60	92,0	3,00	98,0
	2	20,0	20,7	103,5	3,29	
	3	50,0	49,2	98,4	1,50	

PL2. Hàm lượng các dạng glucosamin trong các mẫu thực phẩm chức năng

STT	Kí hiệu mẫu	Chất phân tích	Hàm lượng (mg/viên)		Sai khác so với nhãn (%)
			Phương pháp CE-C ⁴ D	Nhãn	
1	M1	Canxi	18,3	17,5	+4,57
		Glucosamin	308,0	312,5	- 1,44
2	M2	Canxi	7,8	8,0	- 2,50
		Glucosamin	324,0	342,0	- 5,26
3	M3	Canxi	26,3	25,0	+5,20
		Glucosamin	479,0	488,0	- 1,84
4	M4	Canxi	4,5	4,6	- 2,17
		Glucosamin	504,0	506,0	- 0,39
5	M5	Canxi	41,9	40,0	+ 4,75
		Glucosamin	494,0	457,0	+ 8,09
6	M6	Canxi	49,4	48,0	+ 2,91
		Glucosamin	111,0	107,0	+ 3,74

PL3. Kết quả phân tích hàm lượng glucosamin và canxi trong một số mẫu thực phẩm chức năng bằng phương pháp CE-C⁴D và phương pháp đối chứng

STT	Kí hiệu mẫu	Chất phân tích	Hàm lượng (mg/viên)		Sai khác giữa hai phương pháp (%)
			Phương pháp CE-C ⁴ D	Phương pháp đối chứng	
1	M1	Canxi	18,3	18,5	- 0,81
		Glucosamin	308,0	306,5	+ 0,49
2	M2	Canxi	7,8	7,8	0,00
		Glucosamin	324,0	344,0	- 5,81
3	M3	Canxi	26,3	24,9	+ 5,62
		Glucosamin	479,0	450,0	+ 6,44
4	M4	Canxi	4,5	4,4	+ 2,27
		Glucosamin	504,0	501,0	+ 0,60
5	M5	Canxi	41,9	44,8	- 6,47
		Glucosamin	494,0	464,0	+ 6,47
6	M6	Canxi	49,4	47,7	+ 3,56
		Glucosamin	111,0	118,0	- 5,93