

NGHIÊN CỨU ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI ORLISTAT VÀ CETILISTAT TRONG VIÊN NANG CỨNG HỖ TRỢ GIẢM CÂN BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ (LC-MS/MS)

SIMULTANEOUS QUANTIFICATION OF ORLISTAT AND CETILISTAT IN WEIGHT-LOSS CAPSULES BY LIQUID CHROMATOGRAPHY MASS SPECTROMETRY (LC-MS/MS)

Nguyễn Thị Vân Anh¹, Lê Thùy Linh¹, Cao Công Khánh²,
Nguyễn Quang Hùng², Nguyễn Đức Thanh^{3,*}

DOI: <https://doi.org/10.57001/huih5804.2025.395>

TÓM TẮT

Orlistat và Cetilistat là hai chất cấm trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe theo quy định tại Thông tư số 10/2021/TT-BYT. Nhằm kiểm soát chất lượng sản phẩm và đảm bảo an toàn cho người tiêu dùng, nghiên cứu này đã phát triển phương pháp sắc ký lỏng ghép nối 2 lần khối phổ (LC-MS/MS) để định lượng đồng thời Orlistat và Cetilistat trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân. Mẫu được chiết bằng Methanol sau đó được bơm vào hệ HPLC với cột Xbridge C18 (100mm × 2,1mm, 3,5μm), pha động gồm acetonitril và acid formic 0,1% (90:10, v/v) kết hợp với các điều kiện tối ưu của khối phổ MS. Phương pháp cho khoảng tuyến tính 2 - 100ng/mL với giới hạn phát hiện 0,02μg/g, giới hạn định lượng 0,1μg/g. Độ thu hồi đạt 80 - 115% và độ lặp lại trong ngày dao động từ 0,47 - 7,72%, độ tái lặp dao động từ 1,11 - 7,09% đạt yêu cầu theo AOAC với nền mẫu nang cứng thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

Từ khóa: Orlistat; cetilistat; thực phẩm bảo vệ sức khỏe; giảm cân; LC-MS/MS.

ABSTRACT

Orlistat and Cetilistat are prohibited substances in dietary supplements according to Circular No. 10/2021/TT-BYT. To ensure product quality control and consumer safety, this study developed a liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the simultaneous quantification of Orlistat and Cetilistat in weight loss dietary supplements. Samples were extracted using methanol and subsequently injected into an HPLC system equipped with an XBridge C18 column (100mm × 2.1mm, 3.5μm). The mobile phase consisted of acetonitrile and 0.1% formic acid (90:10, v/v), optimized for mass spectrometry (MS) conditions. The method exhibited a linear range of 2 - 100ng/mL, with a limit of detection (MDL) of 0.02μg/g and a limit of quantification (MQL) of 0.1μg/g. Recovery rates ranged from 80% to 115%, with intraday repeatability between 0.47% and 7.72%, and interday reproducibility ranging from 1.11% to 7.09%, meeting the AOAC validation criteria for hard capsule dietary supplement matrices.

Keywords: Orlistat; cetilistat; dietary supplement; weight loss; LC-MS/MS.

¹Học viện Y - Dược học Cổ truyền Việt Nam

²Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia

³Học viện Quân Y

*Email: nguyenducthanh@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 05/5/2025

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 06/10/2025

Ngày chấp nhận đăng: 28/11/2025

1. MỞ ĐẦU

Thừa cân, béo phì là tình trạng phổ biến trong xã hội hiện đại, do vậy, nhiều người tiêu dùng tìm đến các sản

phẩm thực phẩm bảo vệ sức khỏe, được quảng cáo là an toàn. Vì lợi nhuận một số nhà sản xuất đã trộn các chất độc hại, chất cấm sử dụng, chất được phép sử dụng

nhưng liều lượng không đúng để đưa ra thị trường. Orlistat là thuốc được chỉ định cho bệnh nhân béo phì có BMI trên 30kg/m², bệnh nhân có BMI lớn hơn 27kg/m² và có các yếu tố nguy cơ, bao gồm tăng huyết áp, tiểu đường và rối loạn lipid máu [1]. Cetilistat bệnh nhân béo phì có kèm theo tiểu đường loại 2 và rối loạn lipid máu, với chỉ số BMI $\geq 25\text{kg/m}^2$ mặc dù đã điều trị bằng chế độ ăn hoặc liệu pháp tập thể dục [2]. Do vậy, nhiều nhà sản xuất thực phẩm bảo vệ sức khỏe thêm vào sản phẩm nhằm tăng hiệu quả giảm cân. Tuy nhiên, với liều không kiểm soát chúng gây nên các tác dụng phụ từ rối loạn tiêu hóa đến những vấn đề nghiêm trọng hơn như thiếu hụt vitamin hay ảnh hưởng đến chức năng gan [3, 4]. Trước tình trạng này, Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA) đã ban hành quy định cấm các nhà sản xuất và nhà phân phối tiếp thị các sản phẩm chứa thành phần bất hợp pháp hoặc dán nhãn sai [5]. Ở Việt Nam, Bộ Y tế đã ban hành Thông tư số 10/2021/TT-BYT ngày 30 tháng 6 năm 2021 "Quy định Danh mục chất cấm sử dụng trong sản xuất, kinh doanh thực phẩm bảo vệ sức khỏe" gồm 80 chất trong đó có Orlistat và Cetilistat.

Hiện nay, đã có nhiều phương pháp được sử dụng để định lượng Orlistat và Cetilistat trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hay thực phẩm bổ sung như nghiên cứu của Zhou Yu và các cộng sự sử dụng phương pháp HPLC-DAD phân tích đồng thời Orlistat và Cetilistat cùng một số chất khác trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe, MDL của phương pháp là 189ng/mL [6]. J. Wang và các cộng sự sử dụng phương pháp LC-MS/MS để xác định Orlistat và 5 chất khác trên nền thực phẩm bảo vệ sức khỏe dạng bột, dạng lỏng có kết quả MDL VÀ MQL của Orlistat lần lượt là 0,24 $\mu\text{g/g}$ và 0,73 $\mu\text{g/g}$ [7]. Kim và các cộng sự sử dụng LC-MS/MS để xác định Orlistat và 28 chất khác trên nền thực phẩm bổ sung và thực phẩm kết quả MQL của phương pháp là 0,13ng/mL [8]. Ở Việt Nam, nhóm tác giả N.T.Linh và các cộng sự đã xác định Orlistat và 10 chất khác trên nền thực phẩm bảo vệ sức khỏe kết quả cho MDL của Orlistat là 0,75 $\mu\text{g/mL}$ [9]. Tuy nhiên, trên thế giới cũng như trong nước các phương pháp xác định đồng thời Orlistat và Cetilistat trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe còn rất ít, chủ yếu mới xác định một trong hai chất. Nghiên cứu của Zhou Yu và cộng sự sử dụng phương pháp HPLC-DAD để xác định đồng thời Orlistat và Cetilistat. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ phát hiện được các chất phân tích ở nồng độ $\mu\text{g/mL}$, trong khi LC-MS/MS có độ nhạy vượt trội, cho phép phát hiện ở mức ng/mL. Nhờ đó, LC-MS/MS không chỉ cải thiện đáng kể giới hạn phát hiện mà còn đảm bảo độ đặc hiệu cao hơn, giúp phân tích chính xác ngay cả ở nồng độ rất thấp.

Vì vậy, nghiên cứu này đã phát triển phương pháp LC-MS/MS để định lượng đồng thời orlistat và cetilistat trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân dạng nang cứng do tính phổ biến của dạng bào chế này.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất

Chuẩn Orlistat độ tinh khiết 99,4% (Dr. Ehrenstorfer - Đức), số lô C15744000, chuẩn Cetilistat độ tinh khiết 99,16% (TRC - Canada), số lô C280800. Các dung môi acetonitrile, methanol, ethanol, acid formic được cung cấp Merck - Đức. Bột làm sạch C18 - Bondesil cỡ hạt 40 μm có nguồn gốc của Agilent Technologies - Mỹ.

Dung dịch chuẩn gốc từng chất nồng độ 1mg/mL được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 0,0100g chất chuẩn (có tính đến độ tinh khiết) trên cân phân tích có độ chính xác 0,1mg, hòa tan và định mức đến thể tích 10mL bằng dung môi methanol và bảo quản ở điều kiện 2 - 8°C.

Các dung dịch hỗn hợp chuẩn làm việc được pha loãng từ dung dịch hỗn hợp chuẩn gốc bằng dung môi methanol để thu được dãy các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 2,0 đến 100ng/mL ngay trước mỗi lần thí nghiệm.

Hệ thống sắc ký lỏng ghép nối khối phổ 2 lần (LC-MS/MS) H-class-Xevo TQD của hãng Waters - Mỹ. Cột Xbridge C18 (100mm x 2,1mm x 3,5 μm) và tiền cột tương ứng, thể tích tiêm mẫu 2 μL và các thiết bị phụ trợ phòng thí nghiệm khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Khảo sát lựa chọn các thông số thiết bị LC-MS/MS

Tiến hành nghiên cứu các điều kiện LC-MS gồm:

- Lựa chọn thành phần pha động với chương trình đẳng dòng gồm 10% kênh A, 90% kênh B, các hệ dung môi pha động gồm: hệ dung môi 1 (Kênh A: acid formic 0,1%, Kênh B: ACN), hệ dung môi 2 (Kênh A: acid formic 0,1%, Kênh B: MeOH), hệ dung môi 3 (Kênh A: nước 0,1%, Kênh B: ACN), hệ dung môi 4 (Kênh A: nước Kênh B: MeOH).

Lựa chọn các điều kiện khối phổ: Dung dịch chuẩn hỗn hợp Orlistat và Cetilistat ở nồng độ 100ng/mL trong metanol được tiêm không cột vào hệ thống MS để xác định các mảnh ion mẹ và ion con các mảnh tìm được dùng để định tính/ định lượng trong quá trình phân tích. Năng lượng va chạm phân mảnh (CE), điện thế phân mảnh được tự động tối ưu hóa để có được tín hiệu cao và ổn định. Các thông số khối phổ kế (MS) được chọn là ion hóa ở chế độ ESI (+), điện áp vòi phun +4500V; nhiệt độ

hình nón 350°C, khí CID: Ar 1,5mTorr, quét ở chế độ theo dõi đa phản ứng (MRM).

2.3.2. Phương pháp xử lý mẫu

Quy trình xử lý mẫu ban đầu như sau: Với mẫu trắng, đồng nhất 15 viên mẫu trắng, tính khối lượng trung bình viên. Cân một lượng chính xác từ 0,5g - 1,0g mẫu bằng cân phân tích độ chính xác 0,1mg, cho vào ống ly tâm 50mL. Thêm dung môi chiết (MeOH, EtOH, MeOH:n-Hexan = 2:5, v/v), tiến hành chiết (lắc ngang/rung siêu âm) trong 15, 30, 45 phút ở 55°C, 65°C, 75°C. Ly tâm 6000 vòng/ phút trong 3 phút, chuyển toàn bộ dịch vào bình định mức 50mL. Chiết lặp (1,2,3 lần), gộp dịch vào bình định mức 50mL. Định mức bằng dung môi chiết, lọc. Với mẫu thử, cân 0,5g mẫu trắng, thêm 250µL dung dịch chuẩn hỗn hợp 10µg/ mL trên nền mẫu trắng, tương đương nồng độ 50ng/mL dịch chiết hay 5µg/g mẫu thử. Tiến hành quy trình như trên với từng điều kiện.

Các khảo sát được thực hiện cụ thể như sau:

- Khảo sát dung môi chiết: MeOH, EtOH và hỗn hợp MeOH : n- Hexan (2:5, v/v).
- Khảo sát phương pháp chiết: rung siêu âm, lắc ngang.
- Khảo sát nhiệt độ chiết: 55°C, 65°C, 75°C.
- Khảo sát thời gian chiết: 15, 30, 45 phút.
- Số lần chiết: 1 lần, 2 lần, 3 lần
- Điều kiện làm sạch: Để loại bỏ chất béo và tạp màu, sử dụng C18-Bondesil làm chất hấp phụ. Tiến hành thêm 0g; 0,05g; 0,1g; 0,2g bột C18 vào ống eppendorf, thêm 1mL dịch lọc vortex trong 1 phút, ly tâm 6000 vòng/ phút trong 3 phút. Lọc qua màng lọc 0,2µm.

Các điều kiện xử lý mẫu trên được đánh giá bằng hàm lượng hoạt chất theo công thức:

$$X = \frac{C.V.k}{m.1000}$$

X (µg/g): Hàm lượng chất phân tích.

C (ng/mL): Nồng độ chất phân tích trong mẫu trắng thêm chuẩn.

V (mL): Thể tích định mức.

k: Hệ số pha loãng.

m (g): Khối lượng mẫu trắng.

2.3.3. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích

Phương pháp được xác nhận giá trị sử dụng dựa trên các quy định của AOAC [10]:

Tính thích hợp của hệ thống: được đánh giá qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của thời gian lưu và diện tích peak không quá 2% với việc tiêm lặp lại 6 lần dung dịch

mẫu chuẩn có nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính vào hệ thống sắc ký.

Độ đặc hiệu: được đánh giá thông qua phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu trắng thêm chuẩn.

Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng (MDL và MQL) của phương pháp được xác định thông qua phân tích lặp lại 10 lần mẫu trắng thêm chuẩn (trong khoảng 5 - 7 lần MDL ước lượng), tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (SD) của nồng độ xác định được. MDL và MQL tương ứng bằng 3SD và 10SD, hệ số R = x_{tb}/MDL phải trong khoảng từ 4 - 10.

Độ chính xác của phương pháp được đánh giá thông qua độ lặp, độ tái lặp và độ thu hồi.

Độ lặp lại: thêm một lượng chuẩn xác định vào mẫu trắng, phân tích lặp lại 6 lần bằng phương pháp đã khảo sát, đánh giá độ lệch chuẩn tương đối RSD_r.

Độ tái lặp: tiến hành 2 ngày khác nhau trên cùng chung phương pháp, đánh giá qua thông số RSD_R.

Độ thu hồi: Độ thu hồi được xác định ở 3 mức nồng độ thấp, trung bình và cao. Thêm một lượng chuẩn xác định vào mẫu trắng, phân tích lặp lại 6 lần bằng phương pháp đã khảo sát.

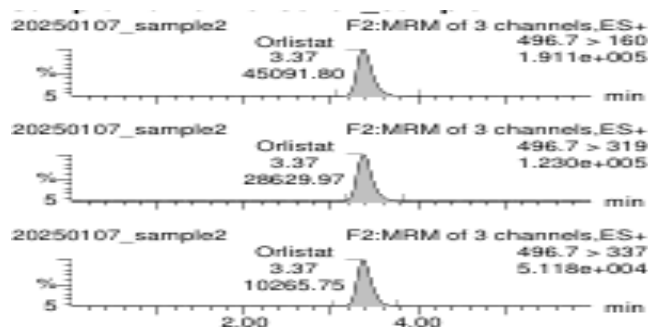
Xử lý số liệu bằng phần mềm MassLynx V4.1 và Microsoft Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu hóa các điều kiện thiết bị LC-MS/MS

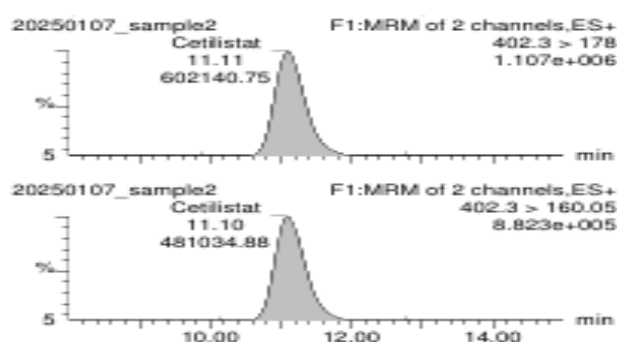
3.1.1. Khảo sát lựa chọn pha động

Pha động là yếu tố quyết định đến hiệu quả tách sắc ký. Kết quả khảo sát các hệ pha động được thể hiện ở bảng 1 và hình 1, cho thấy hệ pha động hệ pha động 1 (acid formic 0,1% và ACN) cho peak cân xứng, diện tích và chiều cao ổn định, tín hiệu lớn nhất giúp làm tăng độ nhạy của phương pháp, độ rộng chân peak nhỏ, tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu lớn làm tăng độ chọn lọc cho chất phân tích, peak cân đối, không có hiện tượng bị che peak hay kéo đuôi, số đĩa lý thuyết cao nhất cho khả năng tách tốt. Do đó, hệ dung môi pha động gồm HCOOH 0,1 %: ACN (10:90, v/v) được lựa chọn.



Bảng 1. Khảo sát dung môi pha động

Hệ pha động	Chất phân tích	Thời gian lưu (phút)	Diện tích peak (cps.s)	Chiều cao peak (cps)	Độ rộng chân peak ($W_{1/2}$ - s)	Số đĩa lý thuyết (N)	Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu (S/N)
Hệ 1	Orlistat	3,36±0,01	44780,76±361,36	193432,00±685,39	9,88±1,26	1985,36	1305,45±272,53
	Cetilistat	11,08±0,03	603990,79±3981,24	1104185,33±11878,88	27,76±0,76	3179,40	3670,48±3248,57
Hệ 2	Orlistat	3,32±0,01	21077,70±199,19	93205,33±2863,12	12,07±0,33	1510,81	1082,39±638,66
	Cetilistat	14,12±0,09	173844,87±7130,69	252934,33±9307,20	43,02±2,85	2165,51	1873,29±1472,62
Hệ 3	Orlistat	3,16±0,01	22371,29±444,54	99780,67±1217,04	11,43±0,48	1529,56	1017,19±218,61
	Cetilistat	13,17±0,10	197091,02±6654,01	280956,00±9749,17	38,52±1,48	2335,96	1394,79±928,92
Hệ 4	Orlistat	3,25±0,01	17770,86±55704,97	277906,67±86486,87	9,53±0,53	2330,46	1210,29±207,37
	Cetilistat	10,56±0,02	351508,99±55709,64	694458,67±93591,70	25,81±1,35	3353,50	4190±1323,02



Hình 1. Sắc ký đồ hệ pha động 1

3.1.2. Lựa chọn điều kiện MS

Bảng 2 thể hiện kết quả khi bơm dung dịch chuẩn hỗn hợp orlistat và cetilistat ở nồng độ 100 ng/mL không qua cột vào hệ thống MS với chế độ ion hóa ESI (+), quét ở chế độ theo dõi đa phản ứng (MRM). Kết quả cho thấy, các thông số MS của phương pháp đáp ứng các yêu cầu của quy định châu Âu [11] khi có ít nhất 5 điểm IP (1 ion mẹ, 2-3 ion con cho mục đích định tính và định lượng).

Bảng 2. Điều kiện mảnh khối của các chất phân tích

Chất phân tích	Ion mẹ (m/z)	Ion con (m/z)	CE (eV)	Số điểm IP
Orlistat	496,7	337	10	5
		319	12	
		160*	10	
Cetilistat	402,3	178,00*	10	5,5
		160,05	26	

*: Mảnh ion dùng để định lượng

3.1.3. Xây dựng đường chuẩn

Thực hiện đo dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chất thay đổi từ 2ng/mL đến 100ng/mL. Kết quả đường chuẩn được trình bày ở bảng 3. Đường chuẩn của

cả hai chất đều có $0,99 \leq R^2 \leq 1$ và độ chệch $\leq 15\%$, đạt yêu cầu của AOAC.

Bảng 3. Khoảng tuyến tính và đường chuẩn của các chất phân tích

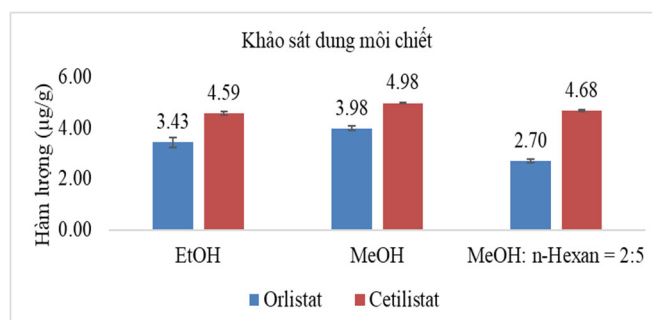
Chất phân tích	Khoảng tuyến tính	Đường chuẩn
Orlistat	2,0 - 100,0ng/mL	$y = 123,107x + 726,623$ $R^2 = 0,9995$
Cetilistat	2,0 - 100,0ng/mL	$y = 4408,76x + 14679,7$ $R^2 = 0,9997$

(*) y là diện tích peak, x là nồng độ chất phân tích (ng/mL)

3.2. Nghiên cứu lựa chọn phương pháp xử lý mẫu

3.2.1. Khảo sát dung môi chiết

Hình 2 thể hiện kết quả khảo sát dung môi chiết, với 2 chất nghiên cứu khi chiết bằng methanol cho hiệu suất cao nhất, kết quả tương đồng với các nghiên cứu trước đó [6-8]. Do đó, methanol được lựa chọn sử dụng làm dung môi chiết mẫu.



Hình 2. Kết quả khảo sát và lựa chọn dung môi chiết

3.2.2. Khảo sát phương pháp chiết, nhiệt độ chiết

Kết quả cho thấy phương pháp rung siêu âm cho hiệu suất chiết cao hơn so với phương pháp lắc ngang với cả hai chất, kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây [7, 8]. Do đó phương pháp rung siêu âm được lựa chọn cho nghiên cứu này.

Tiến hành chiết ở ba mức nhiệt độ 55°C, 65°C, 75°C. Kết quả cho thấy ở nhiệt độ 65°C cho hiệu suất chiết cao nhất. Vì vậy để tài lựa chọn rung siêu âm ở 65°C để xử lý mẫu.

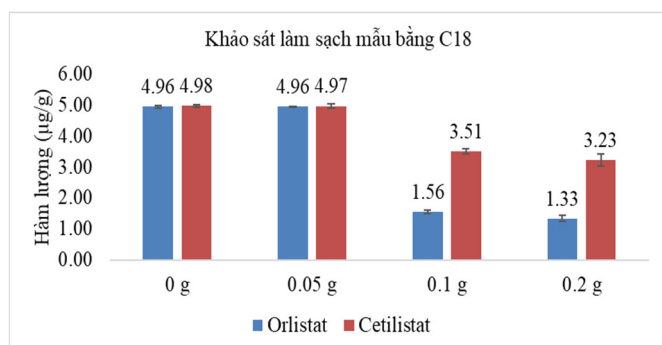
3.2.3. Khảo sát thời gian chiết, số lần chiết

Thời gian chiết quá ngắn thì chất phân tích chưa thể hòa tan hết, ngược lại thời gian quá dài sẽ tốn thời gian chiết mẫu. Kết quả khảo sát cho thấy, hàm lượng hoạt chất thu được khi chiết 30 phút và 45 phút không chênh nhau quá nhiều. Do vậy, để tiết kiệm thời gian chiết cũng như hạn chế nguy cơ orlistat bị thủy phân ở nhiệt độ cao trong thời gian chiết dài, nghiên cứu chọn thời gian chiết là 30 phút.

Chiết lặp lại là một cách để đảm bảo thu hồi được tối đa chất phân tích được chiết ra khỏi nền mẫu. Kết quả cho thấy khi chiết lặp 2 lần và 3 lần cho hiệu suất cao hơn chiết 1 lần, tuy nhiên do hàm lượng hoạt chất thu hồi giữa 2 lần và 3 lần chiết không chênh quá nhiều nên để tiết kiệm thời gian và dung môi nghiên cứu quyết định lựa chọn chiết lặp 2 lần.

3.2.4. Khảo sát điều kiện làm sạch mẫu bằng C18-Bondesil

Hình 3 thể hiện kết quả khảo sát khả năng làm sạch mẫu của C18-Bondesil. Khi sử dụng 0,1g và 0,2g chất làm sạch C18, hàm lượng chất phân tích giảm đáng kể. Khi dùng 0,05g C18 hàm lượng orlistat không thay đổi, hàm lượng cetilistat giảm 0,2% so với mẫu không dùng C18. Vì vậy, với các mẫu TPBVSK phức tạp (màu, dầu) dùng 0,05g C18-Bondesil để làm sạch 1mL dịch lọc mẫu theo quy trình xử lý ở trên.



Hình 3. Kết quả khảo sát điều kiện làm sạch mẫu bằng C18-Bondesil

3.3. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

3.3.1. Tính thích hợp của hệ thống

Sau khi tiêm lặp lại 6 lần dung dịch mẫu chuẩn hỗn hợp 2 chất có nồng độ 100 ng/mL vào hệ thống sắc ký, kết quả ở bảng 4 cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu và diện tích peak đối với 2 chất đều nhỏ hơn 2%, đáp ứng theo yêu cầu của AOAC.

Bảng 4. Kết quả tính thích hợp của hệ thống

Chất phân tích	Thời gian lưu		Diện tích peak	
	Trung bình (phút)	RSD	Trung bình (cps.s)	RSD
Cetilistat	10,30	0,16	453581,68	0,35
Orlistat	3,20	0,31	13149,32	0,35

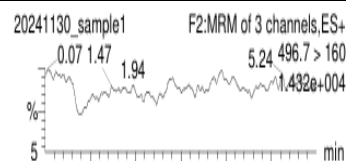
3.3.2. Độ đặc hiệu

Kết quả ở bảng 5 cho thấy, độ đặc hiệu của phương pháp đáp ứng yêu cầu đối với các chất cấm về tỷ lệ ion với ≥ 5 điểm nhận dạng (IP) (1 ion mẹ và 2-3 ion con). Hình 4 thể hiện sắc ký đồ của các mẫu, mẫu trắng không có tín hiệu của chất phân tích, mẫu chuẩn và mẫu trắng thêm chuẩn có peak của chất phân tích cùng thời gian lưu. Như vậy, phương pháp có độ đặc hiệu tốt.

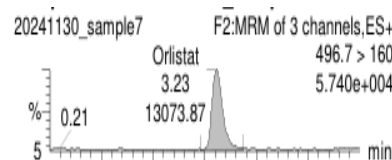
Bảng 5. Số điểm IP của Orlistat và Cetilistat

Chất phân tích	Mẫu	Số điểm IP	Tỷ lệ mảnh định lượng/ định tính	Trung bình
Cetilistat	Chuẩn	5	1,06	1,50
	Trắng thêm chuẩn	5	1,23	
Orlistat	Chuẩn	5,5	1,25	1,15
	Trắng thêm chuẩn	5,5	1,74	

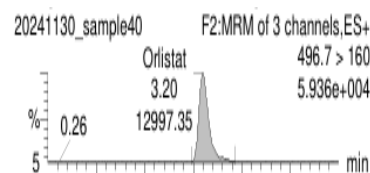
Orlistat



a)

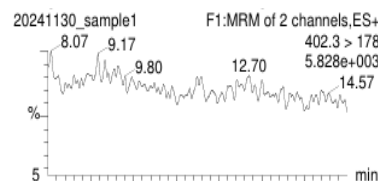


b)

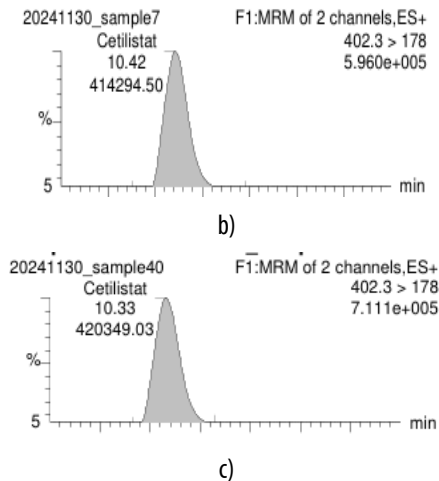


c)

Cetilistat



a)



Hình 4. Sắc ký đồ (a) mẫu trắng, (b) mẫu chuẩn và (c) mẫu trắng thêm chuẩn

3.3.3. Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (MQL)

Tiến hành phân tích phân tích lặp lại 10 lần ở mức nồng độ 2ng/mL. Kết quả MDL, MQL được trình bày trong bảng 6.

Bảng 6. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của Orlistat và Cetilistat

Chất phân tích	Nền mẫu	MDL (µg/g)	MQL (µg/g)	R
Orlistat	Nang cứng	0,03	0,08	4,02
Cetilistat	Nang cứng	0,02	0,08	4,12

MQL tính toán được là 0,08µg/g, R nằm trong khoảng 4 đến 10 đạt yêu cầu AOAC. Tuy nhiên để đảm bảo độ thu hồi của kết quả nhóm nghiên cứu lựa chọn MQL = 0,10µg/g. Như vậy, MDL và MQL trong nghiên cứu này thấp hơn so với các nghiên cứu [7] có MDL và MQL của orlistat lần lượt là 0,24µg/g và 0,73µg/g và [6] có MDL của cetilistat là 189ng/mL.

3.3.4. Độ chính xác

Bảng 7. Kết quả thẩm định độ lặp, độ tái lặp

Chất phân tích	Cspk (ng/mL)	Độ lặp lại			Độ tái lặp		
		Hàm lượng trung bình (µg/g)	RSD _r %	Yêu cầu AOAC	Hàm lượng trung bình (µg/g)	RSD _R %	Yêu cầu AOAC
Orlistat	2	0,10	7,72	≤ 21%	0,10	7,09	≤ 32%
	20	1,01	1,87	≤ 15%	0,99	4,50	≤ 22%
	100	4,98	0,47	≤ 15%	5,08	2,32	≤ 22%
Cetilistat	2	0,10	6,87	≤ 21%	0,10	5,90	≤ 32%
	20	0,94	2,42	≤ 15%	0,95	3,02	≤ 22%
	100	4,94	0,79	≤ 15%	4,95	1,11	≤ 22%

Tiến hành lặp lại 6 lần trên nền mẫu trắng thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ khác nhau là 2ng/mL, 20ng/mL, 100ng/mL. Kết quả độ lặp và độ tái lặp được thể hiện trong bảng 7 cho thấy RSD_r và RSD_R đều nằm trong giới hạn cho phép của AOAC.

Độ thu hồi ở 3 mức nồng độ đối với 2 chất phân tích được thể hiện ở bảng 8. Ở cả ba mức nồng độ độ thu hồi đều đáp ứng yêu cầu AOAC.

Bảng 8. Kết quả thẩm định độ thu hồi

Chất phân tích	Cspk (ng/mL)	Hàm lượng trung bình (µg/g)	Độ thu hồi (%)	Yêu cầu AOAC (%)
Orlistat	2	0,10	84,69-105,29	60-115
	20	1,01	91,60-104,09	80-110
	100	4,98	99,16-106,35	80-110
Cetilistat	2	0,10	91,35-110,98	60-115
	20	0,94	88,31-100,98	80-110
	100	4,94	89,47-100,69	80-110

3.4. Phân tích mẫu thực

Áp dụng phương pháp đã xây dựng và xác nhận giá trị sử dụng để phân tích 10 mẫu thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân dạng nang cứng. Các mẫu đều được lấy mẫu, mã hóa và lưu theo đúng quy trình của Viện kiểm nghiệm an toàn về sinh thực phẩm quốc gia. Kết quả phân tích được trình bày trong bảng 9.

Bảng 9. Kết quả phân tích mẫu thực

Mã mẫu	Orlistat (µg/viên)	Cetilistat (µg/viên)
NC1	KPH*	KPH
NC2	48,49	KPH
NC3	6,10	KPH
NC4	KPH	KPH
NC5	KPH	KPH
NC6	0,08	KPH
NC7	KPH	KPH
NC8	KPH	KPH
NC9	0,01	KPH
NC10	KPH	KPH

(*nồng độ dưới MDL = 0,02µg/g với Cetilistat và MDL = 0,03µg/g với Orlistat)

Trong số 10 mẫu phân tích, phát hiện 4 mẫu nang cứng có mặt orlistat với hàm lượng từ 0,01µg/viên đến 48,49µg/viên, trong 10 mẫu không phát hiện cetilistat. Điều này cho thấy vẫn có hiện tượng thêm chất cấm trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe. Trong thời gian

tới, tiếp tục phân tích số lượng mẫu lớn hơn nhằm đánh giá thực trạng và nguy cơ trộn trái phép orlistat và cetilistat trong thực phẩm bảo vệ sức khỏe.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng thành công quy trình định lượng đồng thời orlistat và cetilistat trong viên nang cứng bảo vệ sức khỏe bằng phương pháp LC-MS/MS với quy trình xử lý mẫu đơn giản, thời gian phân tích nhanh và khoảng tuyến tính rộng 2,0 - 100ng/mL. Phương pháp đã được xác nhận giá trị sử dụng đáp ứng yêu cầu AOAC và đã được áp dụng để định lượng orlistat và cetilistat trong 10 mẫu nang cứng thực phẩm bảo vệ sức khỏe hỗ trợ giảm cân trên thị trường. Kết quả, đã phát hiện 04 mẫu có chứa orlistat trong sản phẩm, điều này đặt ra yêu cầu cấp bách cần giám sát chặt chẽ hơn của các cơ quan quản lý.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bansal Agam B, Preeti Patel, Yasir Al Khalili, *Orlistat*. StatPearls, StatPearls Publishing, 2024.
- [2]. New Drug Approvals, *Cetilistat*, 2024. truy cập ngày 16/01/2025 <<https://newdrugapprovals.org/tag/cetilistat/>>.
- [3]. Dialogues Medical, *Cetilistat*, 2023. truy cập ngày 12/01/2025, <<https://medicaldialogues.in/generics/cetilistat-2723769>>.
- [4]. Filippatos, et al., "Orlistat-associated adverse effects and drug interactions: A critical review," *Drug safety*, 31, 53-65, 2008.
- [5]. US Food Drug Administration, *Questions and answers about FDA's Initiative Against Contaminated Weight Loss Products*. 2021.
- [6]. Yu, et al, "A simple and convenient method for simultaneous determination of four major species of illegal additives in slimming health food," *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33(4), 452-461, 2010.
- [7]. Wang et al., "Analysis of six synthetic adulterants in herbal weight-reducing dietary supplements by LC electrospray ionization-MS," *Food Additives and Contaminants*, 25(7), 822-830, 2008.
- [8]. Kim, et al., "Monitoring of 29 weight loss compounds in foods and dietary supplements by LC-MS/MS," *Food Additives & Contaminants: Part A*, 31(5), 777-783, 2014.
- [9]. Nguyen Trong Linh, Cao Huu Nghia, Chau Vinh Thi, "Screening of synthetic pharmaceutical drugs: PDE5 inhibitors, pain release, slimming groups in health supplements with LC-MS/MS," *Vietnam Journal of Food Control*, 5(2), 462-473, 2022.

[10]. AOAC Research Institute, *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. AOAC Official Methods of Analysis. 2016.

[11]. EUR-Lex, *Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 of 22 March 2021 on the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results as well as on the methods to be used for sampling and repealing Decisions 2002/657/EC and 98/179/EC*. 2021.

[12]. G Mubben, Shwetha K, Lalitha N, "Spectrophotometric determination of cetilistat in tablets," *International Journal for Research Trends and Innovations*, 7(10), 2022.

AUTHORS INFORMATION

**Nguyen Thi Van Anh¹, Le Thuy Linh¹, Cao Cong Khanh²,
Nguyen Quang Hung², Nguyen Duc Thanh³**

¹Vietnam University of Traditional Medicine, Vietnam

²National Institute for Food Control, Vietnam

³Vietnam Military Medical Academy, Vietnam