

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRIT TRONG MỘT SỐ MẪU THỰC PHẨM THEO PHƯƠNG PHÁP TRẮC QUANG

DETERMINING NITRIT CONTENT IN SOME FOODS BY THE SPECTROPHOTOMETER METHOD

Lê Thu Thảo¹, Phạm Thị Kim Anh¹,
Nguyễn Thị Thu Phương^{2,*}

TÓM TẮT

Bài báo này đã công bố kết quả phân tích hàm lượng nitrit (NO_2^-) trong các mẫu thực phẩm gồm rau củ quả, ngũ cốc, thịt và các sản phẩm thịt bằng phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử Sunfaniamit và N-1-naphtyl etylendiamin dihydroclorua. Đã xây dựng được đường chuẩn của NO_2^- ; độ lặp lại; LOD, LOQ của phương pháp (LOD = 0,0622 (mg/l); LOQ = 0,15 (mg/l)).

Từ khóa: NO_2^- , thực phẩm, phương pháp trắc quang.

ABSTRACT

This paper has published the results of analysis of nitrite (NO_2^-) content in food samples including vegetables, cereals, meat and meat products by photometric method using reagent of Sulfaniamide and N-1-naphtyl ethylendiamin Dihydrochloride. A calibration curve of NO_2^- ; repeatability, LOD, LOQ of the method (RSD = 10.2%; LOD = 0.0622 (mg/l); LOQ = 0.15 (mg/l)) has been determined.

Keywords: NO_2^- , food, spectrophotometer method.

¹Lớp Hóa 1- K12, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

²Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: thuphuongdhn@yahoo.com

1. MỞ ĐẦU

Thực phẩm là những loại thức ăn mà con người có thể ăn và uống được để nuôi dưỡng cơ thể. Các nhóm thực phẩm chính gồm ngũ cốc, rau củ quả và thịt cá. Tuy nhiên trong các loại thực phẩm nói chung đều luôn chứa các thành phần của nitơ với những dạng khác nhau trong đó nitrit (NO_2^-) là thành phần nguy hiểm đối với sức khỏe con người. Con người ăn phải thực phẩm nhiễm NO_2^- ở mức độ vượt quá giới hạn sẽ gây nhiều tác hại cho cơ thể. NO_2^- kết hợp với hồng cầu (Hemoglobin) trong máu sau đó chuyển thành Methemoglobin amin là chất ngăn cản việc liên kết và vận chuyển oxy, gây bệnh thiếu oxy trong máu và sinh ra bệnh máu trắng, nitrit còn có thể nitro hóa các amin và amit trong môi trường axit yếu thành các Nitrosamin là tác nhân gây ung thư, quái thai... [1], vì vậy việc xác định NO_2^- trong thực phẩm là hết sức cần thiết. Đã có nhiều phương pháp định lượng Nitrit trong thực vật như phương pháp thể tích, phương pháp điện thế dùng điện cực chọn lọc ion, phương pháp trắc quang, phương pháp sắc ký ion,... [2,6-8]. Trong đó

phương pháp trắc quang là phương pháp dễ thực hiện, thiết bị dễ sử dụng, độ chính xác cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng Nitrit trong một số mẫu thực phẩm theo phương pháp trắc quang nhằm đánh giá hàm lượng nitrit trong các mẫu thực phẩm.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

- Máy đo quang Spectro Thermo Scientific - Mỹ; Cân phân tích Sartorius - Đức; Tủ sấy Memmery - Đức;

- Các dụng cụ thủy tinh dung tích khác nhau như cốc thủy tinh, bình định mức, bình tam giác, lọ thủy tinh, pipet, bếp điện, nồi nhôm, giấy lọc.

- Các hóa chất: Sunfaniamit, N-1-naphtyl etylendiamin dihydroclorua, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, HCl đặc 36%, KNO_2 (Trung Quốc).

Cách pha một số hóa chất chính:

- Thuốc thử Carrez số 1: Hòa tan 106g $[\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ vào nước trong bình định mức 1000ml và thêm nước đến vạch.

- Thuốc thử Carrez số 2: Hòa tan 220g $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ vào nước và 30ml axit axetic băng trong bình định mức 1000ml và thêm nước đến vạch.

- Pha hỗn hợp chất tạo màu:

+ Thuốc thử màu số 1:

Hòa tan 0,4g sulfaniamit vào khoảng 160ml nước trong bình định mức một vạch 200ml bằng cách đun nóng trên nồi cách thủy. Để nguội và lọc nếu cần, sau đó vừa khuấy vừa thêm 20ml HCl đặc. Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

+ Thuốc thử màu số 2:

Hòa tan 0,1g N-1-naphtyl etylendiamin dihydroclorua $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ vào nước trong bình định mức 100ml. Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

2.2. Cách tiến hành

2.2.1. Xây dựng đường chuẩn

Quy trình xây dựng đường chuẩn NO_2^- của rau, củ, quả và ngũ cốc [3]:

Hút lần lượt vào 6 bình định mức (50ml) 0ml; 0,25ml; 0,5ml; 1ml; 1,2ml; 1,5ml; 2ml NO_2^- 20 mg/l. Sau đó hút 5ml

thuốc thử màu 1 + 3ml dd HCl + 1ml thuốc thử màu 2 để bóng tối 3 phút. Định mức và đo quang ở bước sóng 538nm trong 15 phút.

Quy trình xây dựng đường chuẩn nitrit của thịt và các sản phẩm của thịt [4]:

Hút 5ml, 10ml, 15ml, 20ml NO₂⁻ 20 mg/l vào 4 bình định mức 100ml. Thêm dung dịch NaOH điều chỉnh pH từ 8,0 - 8,5, sau đó thêm từng 2ml dung dịch Carrez 1, Carrez 2. Định mức và lọc dung dịch, lấy 2ml dung dịch lọc + 1ml nước cất + 3ml thuốc thử màu 1 và 2. Để bóng tối 30 phút và đo quang ở bước sóng 538nm trong 15 phút

2.2.2. Xác định độ lặp lại, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng

Thực hiện xác định độ lặp lại của phương pháp bằng cách phân tích hàm lượng NO₂⁻ lặp lại 3 lần mẫu lặp xưởng bằng phương pháp trắc quang theo TCVN 7767: 2007.

Thực hiện xác định giới hạn phát hiện của phương pháp bằng cách phân tích hàm lượng NO₂⁻ lặp lại 7 lần mẫu trắng bằng phương pháp trắc quang theo TCVN 7767: 2007.

2.2.3. Phân tích mẫu

a) Thông tin mẫu phân tích

Mẫu phân tích là các mẫu thực phẩm lấy tại chợ Nhớn (Bắc Từ Liêm - Hà Nội) ngày 22/3/2019, chợ Hà Đông (Hà Đông - Hà Nội) ngày 24/3/2019.

b) Xử lý mẫu

Mẫu được rửa sạch bằng nước thường để loại bỏ bụi bẩn. Rửa sạch bằng nước cất, để ráo ở nhiệt độ phòng thực hiện thái, xay nhỏ, huyền vào các túi zip. Ký hiệu túi và các loại mẫu, đậy kín, bảo quản ở 4°C. Thực hiện phân tích mẫu trong 24h.

c) Phân tích mẫu

Phân tích mẫu rau củ quả, ngũ cốc [3]:

Cân 5,000 ± 1,000g mẫu thử cho vào cốc thủy tinh 250ml và thêm 5ml dung dịch dinatri tetraborat bão hòa và khoảng 100ml nước nóng (70°C đến 80°C).

Đun nóng cốc 15 phút trên nồi cách thủy, lắc liên tục. Lần lượt thêm 2ml thuốc thử Carrez 1 và 2ml thuốc thử Carrez 2, lắc sau mỗi lần thêm.

Để nguội, chuyển vào bình định mức 50ml, thêm 5ml thuốc thử màu số 1, sau đó thêm 3ml dung dịch HCl đặc và trộn đều. Thêm tiếp 1 ml thuốc thử màu số 2. Trộn đều, định mức đến vạch và để dung dịch ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trong 3 phút. Xác định độ hấp thụ của dung dịch sử dụng máy đo quang phổ trong vòng 15 phút ở bước sóng 538nm.

Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự như mẫu thật nhưng thay mẫu thật bằng nước cất.

Phân tích mẫu thịt và sản phẩm thịt [4]:

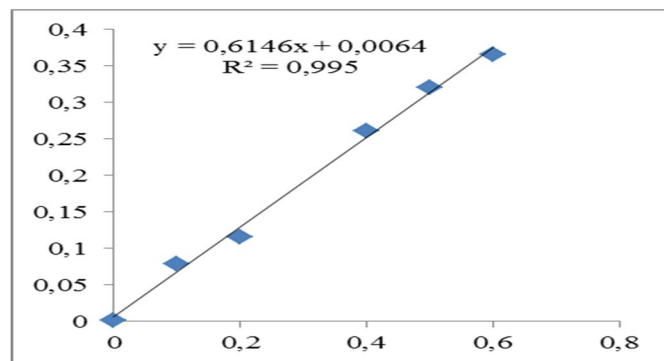
Cân 5,000 ± 1,000g mẫu đã xử lý, cho vào bình nón 250ml, thêm khoảng 25ml nước và lắc đều. Thêm dung dịch natri hydroxit điều chỉnh pH đến khoảng từ 8,0 đến 8,5

bằng giấy đo pH. Làm nóng bình khoảng 15 phút trong nồi cách thủy đun sôi, thỉnh thoảng lắc bình. Làm nguội bình đến nhiệt độ phòng và chuyển lượng chứa trong bình nón sang bình định mức 100 ml và thêm 2ml mỗi dung dịch thuốc thử Carrez số 1 và số 2, lắc sau mỗi lần thêm. Sau đó pha loãng bằng nước đến vạch, trộn đều và lọc lấy dung dịch. Trộn 2,0ml của mỗi dung dịch sau lọc với 1,0ml nước và 3,0ml hỗn hợp thuốc thử màu số 1 và số 2 trong một ống nghiệm, lắc và bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng và để ở nơi tối trong 30 phút. Xác định độ hấp thụ của dung dịch sử dụng máy đo quang phổ trong vòng 15 phút ở bước sóng 538nm.

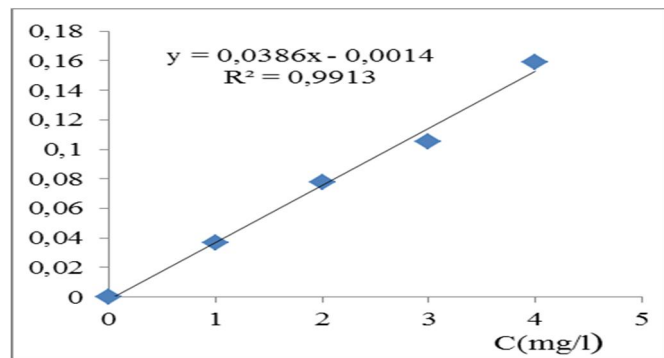
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả xây dựng đường chuẩn

Kết quả xây dựng đường chuẩn của nitrit trong rau củ quả và ngũ cốc, thịt và sản phẩm thịt thể hiện ở hình 1, 2.



Hình 1. Đường chuẩn của nitrit trong rau củ quả và ngũ cốc



Hình 2. Đường chuẩn của nitrit trong sản phẩm thịt

3.2. Kết quả xác định độ lặp lại, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng

Phương pháp có độ lặp lại tốt với RSD% = 10,2 (theo quy định về độ lệch chuẩn phương pháp phân tích theo AOAC thì RSD = 10,2% là đạt yêu cầu trong khoảng hàm lượng từ 1 mg/l-10mg/l)

Kết quả tính được:

LOD = $\bar{x}_0 + 3SD = 0,0622$ (mg/l)

LOQ = $\bar{x}_0 + 10SD = 0,15$ (mg/l)

3.3. Kết quả phân tích mẫu thật

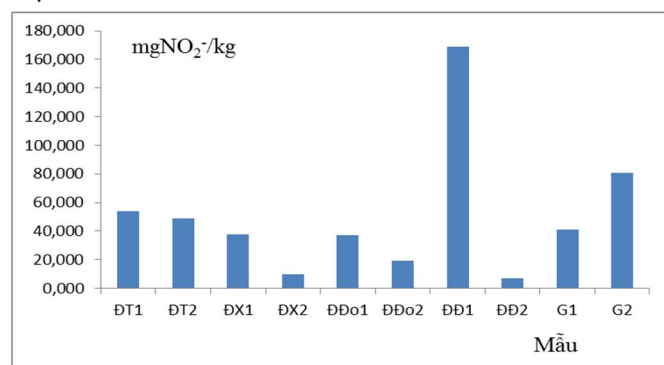
Kết quả phân tích hàm lượng nitrit trong rau củ quả thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân tích hàm lượng nitrit trong rau củ quả

Mẫu	Ký hiệu mẫu	C (mgNO ₂ ⁻ /kg)	Mẫu	Ký hiệu mẫu	C (mgNO ₂ ⁻ /kg)
Cải bắp 1	CB1	<13,434	Bí xanh 1	BX1	<15,000
Cải bắp 2	CB2	<13,239	Bí xanh 2	BX2	<15,000
Rau ngót 1	N1	<14,958	Dưa xanh 1	DX1	63,151
Rau ngót 2	N2	<13,496	Dưa xanh 2	DX2	64,143
Dưa chuột 1	DC1	<13,726	Dưa vàng 1	DV1	60,714
Dưa chuột 2	DC2	<14,269	Dưa vàng 2	DV2	64,052
Mùng tơi 1	MT1	<13,749	Cà 1	C1	61,912
Mùng tơi 2	MT2	<13,091	Cà 2	C2	61,965
Cà chua 1	CC1	<13,284	Dứa 1	D1	<14,825
Cà chua 2	CC2	<14,269	Dứa 2	D2	<14,846
Cải chíp 1	CCh1	<14,671	Củ đậu 1	CĐ1	86,88
Cải chíp 2	CCh2	<12,626	Củ đậu 2	CĐ2	<14,752
Hành tây 1	HT1	<13,746	Xoài 1	X1	235,15
Hành tây 2	HT2	<13,802	Xoài 2	X2	<15,000
Khoai tây 1	KT1	<13,833	Dưa hấu 1	DH1	134,241
Khoai tây 2	KT2	<14,362	Dưa hấu 2	DH2	16,014

Nhận xét: Hàm lượng nitrit trong các mẫu nằm trong khoảng từ thấp nhất là nhỏ hơn 12,626mgNO₂⁻/kg (mẫu cà chua 2) tới cao nhất là 235,15mgNO₂⁻/kg (mẫu xoài 1). Trong đó các mẫu dưa, cà muối, dưa hấu và củ đậu khá cao so với các mẫu còn lại.

Kết quả phân tích hàm lượng nitrit trong ngũ cốc thể hiện ở hình 3.

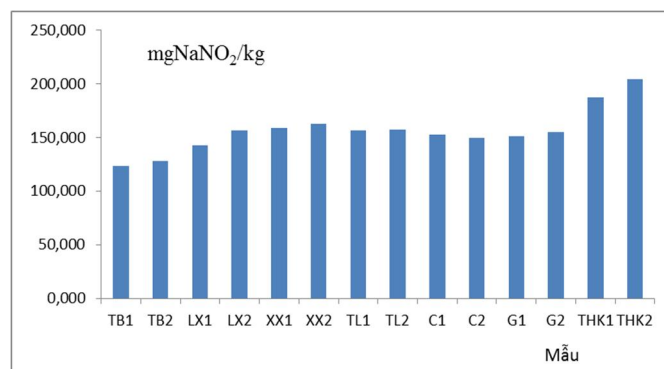


Hình 3. Biểu đồ hàm lượng nitrit trong ngũ cốc

Nhận xét: Hàm lượng nitrit trong các mẫu nằm trong khoảng từ thấp nhất là nhỏ hơn 6,991mgNO₂⁻/kg (mẫu đỗ đen 2) tới cao nhất là 168,63mgNO₂⁻/kg (mẫu đỗ đen 1). Trong đó các mẫu đỗ đen và gạo cao so với các mẫu còn lại.

Kết quả phân tích hàm lượng nitrit trong các sản phẩm thịt thể hiện ở hình 4.

Nhận xét: Hàm lượng nitrit trong các mẫu thịt là khác nhau không đáng kể, thấp nhất là 123,045mgNaNO₂/kg, cao nhất là 204,53mgNaNO₂/kg. Trong đó các mẫu thịt hun khói có hàm lượng nitrit cao hơn đáng kể so với các mẫu còn lại.



Hình 4. Biểu đồ hàm lượng nitrit trong các sản phẩm thịt

4. KẾT LUẬN

Nội dung nghiên cứu đã xây dựng đường chuẩn của phương pháp trắc quang xác định nitrit trong thực phẩm sử dụng thuốc thử Sunfaniamit và N-1-naphtyl etylendiamin dihiroclorea với phương trình đường chuẩn của NO₂⁻ trong rau củ quả và ngũ cốc là $y = 0,6146 + 0,0064x$, $R^2 = 0,995$; phương trình đường chuẩn của NO₂⁻ trong sản phẩm thịt là $y = 0,0386x - 0,0014$, $R^2 = 0,9913$. Phương pháp xác định NO₂⁻ trong thực phẩm bằng phương pháp trắc quang có LOD = 0,0622 mg/l, LOQ = 0,15mg/l, kết quả cho thấy phương pháp có giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng thấp, độ lặp lại tốt (RSD = 10,2%). Đã ứng dụng phương pháp để phân tích nitrit trong một số mẫu rau củ quả và sản phẩm thịt trên thị trường ở chợ Nhổn (Bắc Từ Liêm, Hà Nội) và ở chợ Hà Đông (Hà Đông, Hà Nội).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Phạm Huy Đông, 2000. *Nghiên cứu xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong rau bằng phương pháp trắc quang*. Luận văn thạc sỹ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam.
- [2]. Lê Thị Kim Tiến, Nguyễn Văn Ly, 2012. *Phân tích và đánh giá hàm lượng nitrat, nitrit trong một số thực phẩm chế biến lưu hành ở thành phố Huế*. Tạp chí Khoa học, Đại học Huế, Tập 74B, Số 5, 185-191.
- [3]. TCVN 7767:2007 - Rau,quả và sản phẩm rau,quả - Xác định hàm lượng nitrat và nitrit- Phương pháp đo phổ hấp thụ phân tử.
- [4]. TCVN 8160-3:2010 - Thực phẩm - Xác định hàm lượng nitrat hoặc nitrit - Phần 3: Xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong sản phẩm thịt bằng phương pháp đo phổ sau khi khử nitrat thành nitrit bằng enzym.
- [5]. Trần Cao Sơn, 2010. *Thẩm định phương pháp phân tích vi sinh vật*. NXB Khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
- [6]. Leth T, Fagt S, Nielsen S, Andersen R, 2008. *Nitrite and nitrate content in meat products and estimated intake in Denmark from 1998 to 2006*. Food Addit Contam 25: 1237-1245.
- [7]. Sayed Fakhreddin Afzali, Rezvan Flahi, 2014. *Measuring nitrate and nitrite concentrations in vegetables, fruits in Shiraz*. J. Appl. Sci. Environ. Manage.
- [8]. Shin-Shou Chou, Jen-Chien Chung and Deng-Fwu Hwang, 2003. *A high Permacne Liquid Chromatography Method for determining Nitrate and nitrite levels in vegetables*. Journal of Food and Drug.