

# ĐÁNH GIÁ SỰ BIẾN ĐỔI HÀM LƯỢNG NITRAT VÀ NITRIT TRONG QUÁ TRÌNH LÊN MEN TỰ NHIÊN MỘT SỐ LOẠI THỰC PHẨM MUỐI CHUA

EVALUATION OF CHANGES IN NITRATE AND NITRITE CONTENT DURING NATURAL FERMENTATION IN SOME PICKLED FOODS

Nguyễn Thị Hồng Ngát<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thanh Hằng<sup>1</sup>, Nguyễn Trà My<sup>1</sup>, Phạm Ngọc Hương<sup>1</sup>, Kiều Thị Phương Nga<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thoa<sup>2,\*</sup>

## TÓM TẮT

Thực phẩm muối chua là một loại thực phẩm lên men truyền thống ở Việt Nam phổ biến là rau cải muối chua, hệ vi sinh khuẩn acid lactic trong loại rau lên men này bị ảnh hưởng bởi các quá trình lên men khác nhau vì điều kiện môi trường. Đối với các loại rau cải thường sử dụng phân đạm urê để chăm bón, quá trình lên men sẽ khiến hàm lượng nitrat có trong rau bị khử thành nitrite.

**Từ khóa:** Nitrat; nitrit; rau muối chua.

## ABSTRACT

Pickles are a type of traditional fermented food in Vietnam, commonly pickled vegetables, lactic bacteria in this fermented vegetable are affected by different fermentation processes due to environmental conditions. For vegetables that often use urea nitrogen fertilizer to fertilize, the fermentation process will cause the nitrate content in the vegetables to be reduced to nitrite.

**Keywords:** Nitrate; nitrite; pickled vegetables.

<sup>1</sup>Lớp ĐH Hóa Thực phẩm 03- K14, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

<sup>2</sup>Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

\*Email: thoa0808@gmail.com

## 1. GIỚI THIỆU

Quá trình lên men nitrat trong mô thực vật chuyển thành nitrite, nồng độ nitrite tăng theo thời gian, tăng cao trong vài ngày đầu và giảm dần khi dưa đã vàng và tăng cao trở lại khi dưa bị hư hỏng. Số lượng nhiều nitrat tiêu thụ gián tiếp qua thực phẩm có thể gây hại cho sức khỏe. Trong hệ thống tiêu hóa, nitrat có thể chuyển đổi thành nitrit do đó phản ứng với các amin sản xuất các hợp chất N-nitroso như Nitrosamin có khả năng gây ung thư ở dạ dày. Nitrit còn là một trong những chất chuyển biến oxyhemoglobin thành chất không hoạt động được gọi là Methemoglobin làm giảm quá trình vận chuyển oxy trong máu. Đặc biệt, rau lên men nằm trong danh sách Tổ chức Y tế Thế giới cảnh báo có chất gây ung thư.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Hóa chất và dụng cụ

Hóa chất:  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , axit Sulfanilic,  $\alpha$  naphthylamin, axit phenoldisulfonic, NaOH.

Dụng cụ: Các dụng cụ thủy tinh cơ bản, bếp điện, cân phân tích, máy đo quang, máy say sinh tố, máy lọc hút chân không.

### 2.2. Phương pháp xử lý mẫu và xác định hàm lượng nitrat và nitrit

#### 2.2.1. Phương pháp xử lý mẫu

Phương pháp nghiền:

- Các mẫu phân tích tại các thời điểm cần phân tích được xử lý theo công thức sau: 50g mẫu + 60ml nghiền nhuyễn bằng máy xay sinh tố.

- Lấy 24g hỗn hợp sau khi xay chuyển vào bình định mức 250ml, thêm 50 ml dung dịch  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  sau đó lắc trong 10 phút, định mức đến vạch, để lắng. Dùng máy lọc chân không để lọc hỗn hợp lấy dịch trong. Ta sẽ dùng dịch trong đã lọc được để đem đi xác định nitrit và nitrat.

#### 2.2.2. Xác định hàm lượng nitrat

Chuẩn bị dãy cốc 250ml, lấy vào mỗi cốc 10ml dịch, lấy vào mỗi bình 10ml (thay đổi phù hợp) dịch mẫu dưa, mẫu cà đã chiết theo các nồng độ và theo nhiệt độ lần lượt là: mẫu dưa 1 (2%), mẫu dưa 2 (3%), mẫu dưa 3 (4%), mẫu cà 1 (2%), mẫu cà 2 (3%), mẫu cà 3 (4%), mẫu dưa ( $20^\circ\text{C}$ ), dưa ( $32^\circ\text{C}$ ), cà ( $20^\circ\text{C}$ ), cà ( $32^\circ\text{C}$ ). Đồng thời tiến hành mẫu trắng với 10ml nước như với dung dịch mẫu. Đun cách thủy cho bay hơi đến cạn (không để cháy) và để nguội. Thêm vào mỗi cốc 1,5ml dung dịch axit phenoldisulfonic, lắc mạnh cho phản ứng xảy ra nhanh chóng. Để trong 10 phút, sau đó thêm mỗi cốc khoảng 20ml nước cất. Thêm vào mỗi cốc 8ml dung dịch NaOH 30%. Chuyển dung dịch trong cốc vào bình định mức dung tích 50ml, định mức bằng nước cất đến vạch và lắc kỹ. Sau 20 phút, đo độ hấp thụ quang ở bước sóng 410nm. Đo dung dịch mẫu đồng nhất điều kiện như đo dung dịch tiêu

chuẩn. Căn cứ vào đồ thị chuẩn và số đo mẫu trên máy xác định được nồng độ  $\text{mg NO}_3^-/\text{l}$  trong dung dịch đo, từ đó suy ra hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  trong mẫu.

Phân tích liên tục một tuần sau khi muối dưa, cà cho đến khi mẫu hỏng. Từ đó so sánh các mẫu với các nồng độ khác nhau để chỉ ra đối với nồng độ nào ở thời điểm nào thì lượng nitrat đạt cao nhất và ở thời điểm nào nitrat đạt nồng độ thấp nhất. So sánh các mẫu với nhiệt độ khác nhau để chỉ ra ở nhiệt độ nào với thời điểm nào thì hàm lượng nitrat sẽ đạt cao nhất và ở nhiệt độ nào và thời điểm nào thì hàm lượng nitrat sẽ đạt thấp nhất.

Hàm lượng nitrat tính theo miligam/kg mẫu tươi ( $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$  mẫu tươi) được tính theo công thức:

$$\text{mg NO}_3^-/\text{kg mẫu tươi} = \frac{a \times V \times 1000}{V' \times m}$$

Trong đó:

a: Hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  tính bằng miligam trong thể tích trích (mg);

V: Thể tích dung dịch mẫu sau khi chiết tính bằng mililit (ml);

V': Thể tích dung dịch trích ra để xác định tính bằng mililit (ml);

m: Khối lượng mẫu tươi tính bằng gam (g);

1000 là hệ số quy đổi từ gam (g) sang kilogam (kg).

**2.2.3. Xác định hàm lượng nitrit**

Chuẩn bị dây bình định mức dung tích 50 ml, lấy vào mỗi bình 10 ml (thay đổi phù hợp) dịch mẫu dưa, mẫu cà đã chiết theo các nồng độ và theo nhiệt độ lần lượt là: mẫu dưa 1 (2%), mẫu dưa 2 (3%), mẫu dưa 3 (4%), mẫu cà 1 (2%), mẫu cà 2 (3%), mẫu cà 3 (4%), mẫu dưa (20°C), dưa (32°C), cà (20°C), cà (32°C). Đồng thời tiến hành mẫu trắng với 10ml nước như với dung dịch mẫu. Thêm vào mỗi bình 1,5ml thuốc thử dung dịch sulfanilic và 1,5ml thuốc thử  $\alpha$ -naphthylamin. Định mức bằng nước cất đến vạch và lắc kỹ. Sau 20 phút, đo độ hấp thụ quang của dung dịch mẫu ở bước sóng 520nm, thời gian đo không quá 1 giờ kể từ khi phản ứng màu. Đo dung dịch mẫu đồng nhất, điều kiện như đo dung dịch tiêu chuẩn. Căn cứ vào đồ thị chuẩn và số đo mẫu trên máy xác định được nồng độ  $\text{mgNO}_2^-/\text{l}$  trong dung dịch đo, từ đó suy ra hàm lượng  $\text{NO}_2^-$  trong mẫu. Phân tích liên tục một tuần sau khi muối dưa, cà đến khi nào mẫu hỏng. Từ đó so sánh các mẫu với các nồng độ khác nhau để chỉ ra đối với nồng độ nào ở thời điểm nào thì lượng nitrit đạt cao nhất và ở thời điểm nào nitrit đạt nồng độ thấp nhất. So sánh các mẫu với nhiệt độ khác nhau để chỉ ra ở nhiệt độ nào với thời điểm nào thì hàm lượng nitrit sẽ đạt cao nhất và ở nhiệt độ nào và thời điểm nào thì hàm lượng nitrit sẽ đạt thấp nhất.

Hàm lượng nitrat tính theo miligam/kg mẫu tươi ( $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$  mẫu tươi) được tính theo công thức:

$$\text{mg NO}_3^-/\text{kg mẫu tươi} = \frac{a \times V \times 1000}{V' \times m}$$

Trong đó: a,V,V',m tương tự phần 2.2.2

**2.3. Khảo sát ảnh hưởng của môi trường**

**2.3.1. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ muối đến thực phẩm muối chua**

Các mẫu dưa và cà được muối chua ở nồng độ muối khác nhau ở nhiệt độ phòng thí nghiệm. Các nồng độ muối được khảo sát bao gồm: NaCl 2%, NaCl 3% và NaCl 4%.

a) Đối với mẫu dưa

Bảng 1. Đặc điểm dưa muối chua ở các nồng độ muối khác nhau

| Mẫu                    | Mẫu 1 | Mẫu 2 | Mẫu 3 |
|------------------------|-------|-------|-------|
| Nồng độ NaCl (%)       | 2     | 3     | 4     |
| Nước sôi để nguội (ml) | 1000  | 1000  | 1000  |
| Muối (g)               | 20    | 30    | 40    |
| Đường (g)              | 6     | 6     | 6     |

b) Đối với mẫu cà

Bảng 2. Đặc điểm cà muối chua ở các nồng độ muối khác nhau

| Mẫu                        | 1   | 2   | 3   |
|----------------------------|-----|-----|-----|
| Nồng độ NaCl (%)           | 2%  | 3%  | 4%  |
| Nước đun sôi để nguội (ml) | 500 | 500 | 500 |
| Muối (g)                   | 10  | 15  | 20  |
| Đường (g)                  | 6   | 6   | 6   |

**2.3.2. Khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ đến thực phẩm muối chua**

Các mẫu dưa và cà được muối chua ở nồng độ muối như nhau nhưng ở nhiệt độ khác nhau.

Các nhiệt độ khảo sát quá trình muối chua là ở 2 nhiệt độ 20°C và 32°C.

a) Đối với mẫu dưa

Bảng 3. Đặc điểm mẫu dưa muối chua theo nhiệt độ

| Mẫu                        | Mẫu 1 (20°C) | Mẫu (32°C) |
|----------------------------|--------------|------------|
| Nước đun sôi để nguội (ml) | 1000         | 1000       |
| Muối (g)                   | 30           | 30         |
| Đường (g)                  | 6            | 6          |

b) Đối với mẫu cà

Bảng 4. Đặc điểm mẫu cà muối chua theo nhiệt độ

| Mẫu                        | Mẫu 1 (20°C) | Mẫu (32°C) |
|----------------------------|--------------|------------|
| Nước đun sôi để nguội (ml) | 500          | 500        |
| Muối (g)                   | 15           | 15         |
| Đường(g)                   | 6            | 6          |

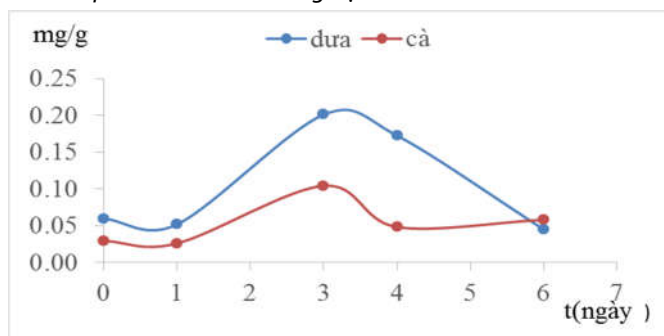
**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ muối**

**3.1.1. Ảnh hưởng của nồng độ muối đến hàm lượng Nitrat**

Tiến hành theo phần 2.2.2 kết quả thực nghiệm được trình bày như sau:

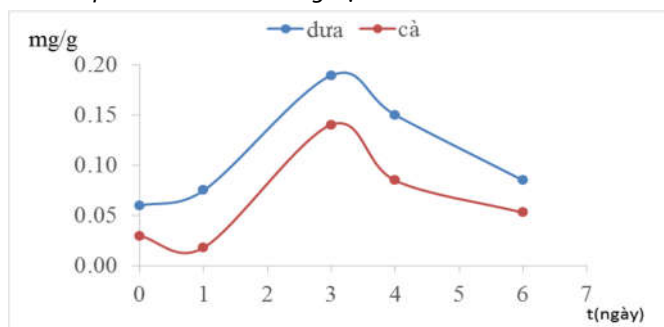
Kết quả muối chua ở nồng độ muối NaCl 2%.



Hình 1. Đồ thị khảo sát nồng độ NaCl 2%

Nhận xét: Nồng độ nitrat trong dưa cao, có chiều hướng tăng lên từ ngày 1 đến ngày 3 và lại giảm dần do sự khử nitrat thành nitrit nên trong ngày thứ 3 ta không nên sử dụng. Nitrat trong dưa cải thì cao hơn so với dưa cà. Hàm lượng nitrat nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng. Màu sắc vàng đẹp, vị nhạt.

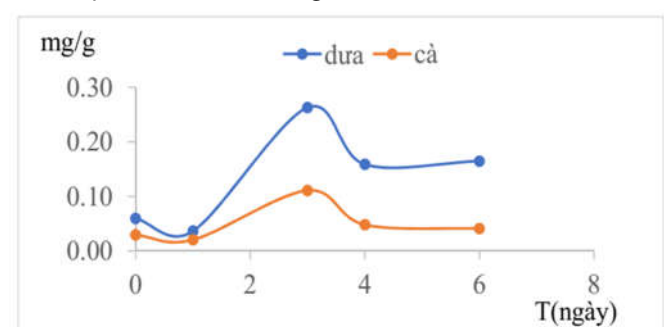
Kết quả muối chua ở nồng độ muối NaCl 3%.



Hình 2. Đồ thị khảo sát NaCl 3%

Nhận xét: Nồng độ nitrat trong dưa tương đối cao. Cao nhất ở ngày 3 và sau đó giảm dần. Nên trong ngày thứ 3 ta không nên sử dụng. Hàm lượng nitrat nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng. Màu vàng đẹp, giòn ngon, vị vừa.

Kết quả muối chua ở nồng độ muối NaCl 4%.



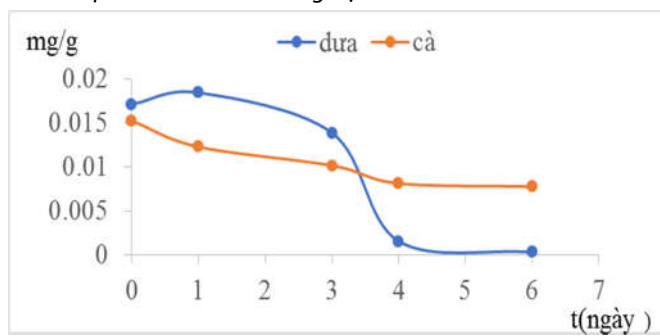
Hình 3. Đồ thị khảo sát NaCl 4%

Nhận xét: Hàm lượng nitrat cao và hơn hẳn so với nồng độ 2% và 3%. Không nên sử dụng ở nồng độ này, vị mặn và nhanh chua. Hàm lượng nitrat nằm trong tiêu chuẩn.

### 3.1.2. Ảnh hưởng của nồng độ muối đến hàm lượng Nitrit

Tiến hành theo phần 2.2.3 kết quả thực nghiệm được trình bày như sau:

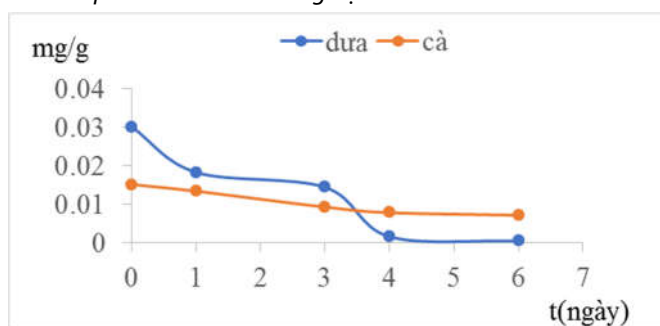
Kết quả muối chua ở nồng độ muối NaCl 2%



Hình 4. Đồ thị khảo sát NaCl 2%

Nhận xét: Với nồng độ NaCl 2%, hàm lượng nitrit cao và giảm dần từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 4, nồng độ nitrit trong dưa cải thì cao hơn so với dưa cà. Hàm lượng nitrit nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng. Dưa vàng đẹp, vị nhạt.

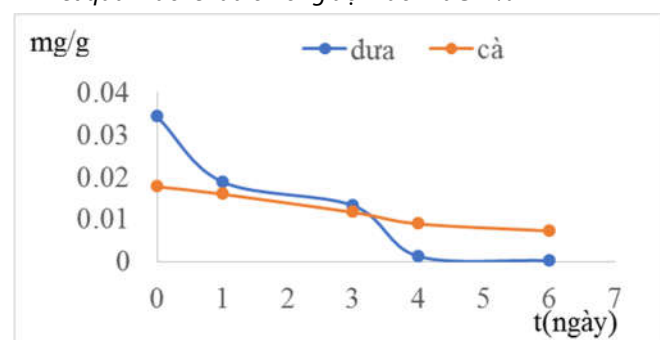
Kết quả muối chua ở nồng độ muối NaCl 3%.



Hình 5. Đồ thị khảo sát NaCl 3%

Nhận xét: Quá trình muối chua ở nồng độ muối 3% tạo vị mặn vừa phải và quá trình lên men sản phẩm là phù hợp. Hàm lượng nitrit thấp nhất trong khoảng 3 ngày, vị mặn và độ chua cũng vừa phải. Vì vậy nên dùng sản phẩm trong ngưỡng từ ngày 3 đến ngày thứ 5. Hàm lượng nitrit nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng. Màu vàng đẹp, giòn, vị vừa ngon.

Kết quả muối chua ở nồng độ muối NaCl 4%



Hình 6. Đồ thị khảo sát NaCl 4%

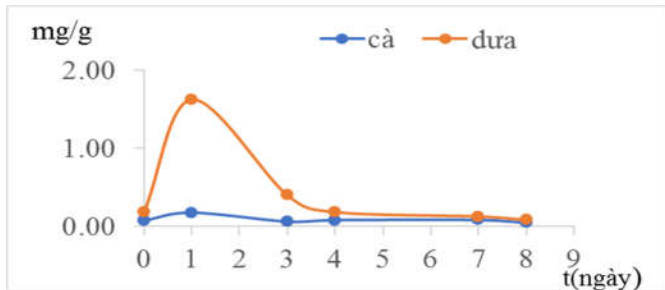
Nhận xét: Với nồng độ NaCl 4%, hàm lượng nitrit giảm dần từ ngày thứ 1 đến ngày thứ 4, ở nồng độ muối này chúng ta không nên sử dụng do có hàm lượng nitrit cao hơn hẳn nồng độ 2% và 3%. Dưa vàng và chua nhanh, vị mặn. Hàm lượng nitrit nằm trong tiêu chuẩn.

**3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ**

**3.2.1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng nitrat**

Tiến hành theo phần 2.2.2 kết quả thực nghiệm được trình bày như sau:

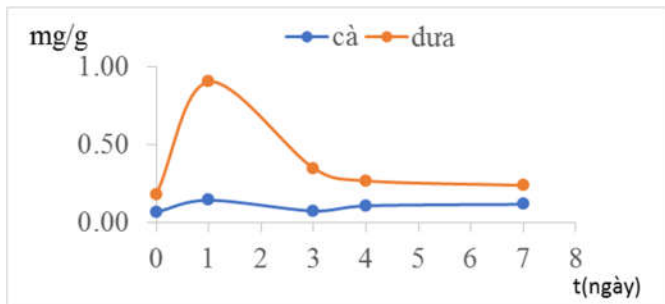
*Kết quả khảo sát muối chua ở nhiệt độ 20°C.*



Hình 7. Đồ thị khảo sát muối chua ở nhiệt độ 20°C

Nhận xét: nitrat ở 20°C cao và giảm dần. Hàm lượng nitrat của cà nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng. Hàm lượng nitrat trong dưa ở ngày thứ 2 là 1,63mg/g vượt quá tiêu chuẩn, không nên sử dụng trong trường hợp này. Dưa có màu vàng đẹp, vị vừa phải.

*Kết quả khảo sát muối chua ở nhiệt độ 32°C*



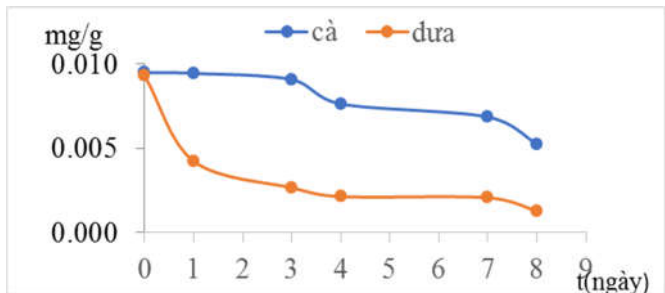
Hình 8. Đồ thị khảo sát muối chua ở nhiệt độ 32°C

Nhận xét: nitrat ở 32°C cao và giảm dần, nitrat trong dưa cao hơn ở cà, và nitrat cao nhất sau khi muối được một ngày nên không nên sử dụng sản phẩm ngay sau khi muối. Nên sử dụng sản phẩm từ ngày 3 đến ngày 5. Hàm lượng nitrat của cà nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng. Tuy nhiên của dưa vào ngày thứ 2 là 0,9mg/g lại vượt quá tiêu chuẩn, không nên sử dụng trong ngày này.

**3.2.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ đến hàm lượng nitrit**

Tiến hành theo phần 2.2.3 kết quả thực nghiệm được trình bày như sau:

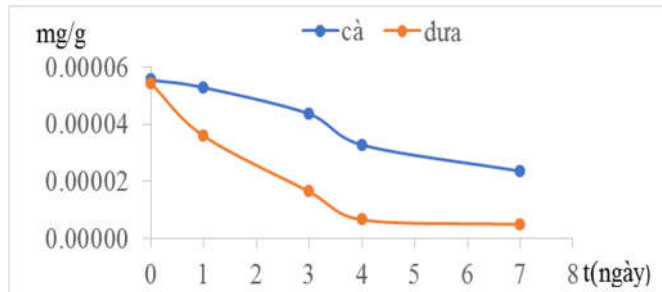
*Kết quả khảo sát muối chua ở nhiệt độ 20°C.*



Hình 9. Đồ thị khảo sát nồng độ NO<sub>2</sub> ở 20°C

Nhận xét: Ở 20°C, hàm lượng nitrit nhỏ, chỉ khoảng 0,001 - 0,009 nên an toàn khi sử dụng, nên sử dụng từ ngày 3 đến ngày 5 do có cảm quan vàng đẹp và vị vừa ngon. Hàm lượng nitrit nằm trong tiêu chuẩn.

*Kết quả khảo sát muối chua ở nhiệt độ 32°C*



Hình 10. Đồ thị khảo sát nồng độ NO<sub>2</sub> ở 32°C

Nhận xét: Ở 32°C, hàm lượng nitrit nhỏ và giảm nhanh từ ngày 1 đến ngày 4, chúng ta nên sử dụng từ ngày 3 đến ngày 5 do có cảm quan đẹp và vị vừa phải. Hàm lượng nitrit nằm trong tiêu chuẩn, an toàn khi sử dụng.

Ở nhiệt độ thấp tương ứng với mùa lạnh, nên sử dụng sản phẩm muối chua sau khi muối 3 ngày. Tuy nhiên ở nhiệt độ tương ứng với mùa nóng thì khoảng thời gian khuyên dùng sản phẩm là sau khi muối 2 ngày từ ngày 3 đến ngày thứ 5. Trong khoảng thời gian trên, sản phẩm vừa đảm bảo vị, hương, màu sắc ngon mắt và hàm lượng nitrit thấp.

**4. KẾT LUẬN**

Sau khi đã khảo sát những điều kiện tối ưu trong quá trình phá mẫu và lựa chọn điều kiện tối ưu với nồng độ muối 3%, mẫu sử dụng an toàn từ ngày 3 đến ngày thứ 5.

Các loại rau cải dùng để muối dưa cũng thường có nitrit. Khi chưa muối thì hàm lượng này tương đối thấp nhưng khi đem muối trong vài ngày đầu hàm lượng nitrit tăng lên do quá trình vi sinh khử nitrat thành nitrit. Chất này sẽ giảm dần và mất hẳn khi dưa có vị chua và màu vàng đẹp. Nhưng nếu để dưa bị khú (dưa để quá lâu) thì hàm lượng này lại tăng cao.

**TÀI LIỆU THAM KHẢO**

[1]. Võ Thị Xuân Hương, Trương Phước Thiên Hoàng, Nguyễn Ngọc Bảo Châu, Nguyễn Bảo Quốc. *Phân lập và nhận diện vi khuẩn phân giải nitrat trong dưa cải muối chua*. Trường Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh.  
 [2]. Tiêu chuẩn quốc gia. *Thực phẩm - xác định hàm lượng nitrit và nitrat*. TCVN 8160-3:2010, EN 12014-3:2005.  
 [3]. Tiêu chuẩn quốc gia, TCVN 8742:2011. *Cây trồng - xác định nitrat và nitrit bằng phương pháp so màu*, (Plant- Determination of nitrate and nitrite by colorimetric method).  
 [4]. Đặng Trần Trung, Nguyễn Quang Thạch, Đỗ Tấn Dũng, 2018. *Thực trạng dư lượng nitrate (NO<sub>3</sub>) trong một số loại rau tại tỉnh Bắc Ninh*. Tạp chí Khoa học Nông nghiệp Việt Nam.

- [5]. Bệnh viện Medlatec. *Nguy hại của nitrit với sức khỏe*.
- [6]. Phạm Huy Đông. *Nghiên cứu xác định hàm lượng nitrit và nitrat trong rau bằng phương pháp trắc quang*. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên
- [7]. Nguyễn Thị Thu Phương, Đào Thu Hà, Trần Thị Yến. *Xác định hàm lượng nitrit và nitrat trong một số mẫu rau củ quả theo phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử axit salicylic*. Tạp chí Khoa học Công nghệ, Đại học Công nghiệp Hà Nội.
- [8]. Dưa muối, Wikipedia, Bách khoa toàn thư.
- [9]. Giáo trình Phân tích công cụ, Đại học Công nghiệp Hà Nội.
- [10]. Đặng Thị Trang. *Các phương pháp phân tích nitrit, nitrat và amoni trong phòng thí nghiệm*. Trường Đại học Khoa học Tự nhiên.
- [11]. Santamaria P, 2006. *Nitrate in vegetables: Toxicity, content, intake and EC regulation (review)*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 86(1), 10-17.
- [12]. ZhanshengDing, Suzanne D, Johanningsmeier, RobertPrice, Rong Reynolds, Van-DenTruong, Summer ConleyPayton, FredBreidt. *Evaluation of nitrate and nitrite contents in pickled fruit and vegetable products, School of Food Science and Technology*. Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu, 214122, China.
- [13]. Mức giới hạn tối đa cho phép của một số vi sinh vật và hoá chất gây hại trong sản phẩm rau, quả, chè (Kèm theo quyết định số 99 /2008/QĐ-BNN ngày 15 tháng 10 năm 2008) của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn.