

Tạp chí

ISSN 0866 - 8612

KHOA HỌC

ĐẠI HỌC QUỐC GIA HÀ NỘI

*Khoa học Tự nhiên
và Công nghệ*

Natural Sciences and Technology



Vol. 30, No. 65-B, 2014

MỤC LỤC

1. Nguyễn Đình Chinh, Trần Đức Nghĩa, Lê Ngọc Hoàn, Tạ Đức Tuyên, Phạm Anh Tuấn, Trần Đức Tân, Tích hợp đa cảm biến cho ứng dụng cảnh báo trượt đất 202
2. Trần Thị Hải, Tạ Thị Tiến, Trần Thị Thanh Hải, Lê Thị Hạnh, Tính độ linh động của hạt tải trong giếng lượng tử pha tạp một phía 211
3. Nguyễn Hoài Thương, Mai Văn Hiếu, Phan Thanh Sang, Lê Thị Ngọc Thảo, Nguyễn Trần Anh Thư, Nguyễn Ngọc Tú Uyên, Nguyễn Thế Duy, Nguyễn Trọng Tuấn, Quy trình tối ưu chiết xuất naringin từ vỏ quả bưởi *Citrus maxima* 218
4. Nguyễn Thị Thanh Chi, Trần Thị Đà, Tổng hợp, cấu trúc và hoạt tính kháng tế bào ung thư của phức chất platin(II) chứa axit eugenoxaxetic và quinolin hoặc 8-hydroxyquinolin 225
5. Nguyễn Trường Quân, Lê Văn Chiếu, Cao Thế Hà, Trần Đình Minh, Nghiên cứu xử lí nước thải giàu C, N và P bằng kĩ thuật AAO cải tiến bán liên tục 232
6. Nguyễn Trường Quân, Lê Văn Chiếu, Hiện trạng ô nhiễm kim loại nặng tại làng nghề Bình Yên sản xuất và tái chế nhôm 239
7. Phạm Thị Thanh Yên, Huỳnh Trung Hải, Nguyễn Quang Trung, Xác định đồng thời kháng sinh họ quinolons, penicillins và trimethoprim trong cá bằng sắc ký lỏng hai lần khối phổ 246
8. Phạm Thị Thu Trang, Đinh Thị Mai Thanh, Phạm Thị Năm, Nguyễn Thu Phương, Hồ Thu Hương, Vũ Thị My, Nguyễn Thị Thu Trang, Thái Hoàng, Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến hình thái cấu trúc của PLA/HAP tổng hợp bằng phương pháp vi nhũ in-situ 255
9. Nguyễn Tiến Thảo, Nguyễn Văn Tiên, Đặng Văn Long, Lê Thị Kim Huyền, Hoạt tính xúc tác của Coban Oxit/Bentonite trong chuyển hóa Styrene 263
10. Lê Thị Hồng Hải, Trần Thị Đà, Đỗ Thị Bích Huệ, Tổng hợp và cấu trúc phức chất cơ Platin chứa Etyl Eugenoxylaxetat và 2-amino Pyridin 269
11. Đinh Thị Trường Giang, Nghiên cứu xác định hàm lượng các nguyên tố vi lượng (Selen, Sắt, Mangan, Đồng, Kẽm) trong một số loại nấm linh chi vùng Bắc Trung Bộ - Việt Nam bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) 275
12. Lê Thế Tâm, Trần Phương Chi, Xác định dư lượng Rhodamin B trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) 281

Xác định dư lượng Rhodamin B trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Lê Thế Tâm*, Trần Phương Chi

Khoa Hoá học, Đại học Vinh, 182 Lê Duẩn, Thành phố Vinh, Nghệ An

Nhận ngày 10 tháng 10 năm 2014

Chỉnh sửa ngày 30 tháng 10 năm 2014; Chấp nhận đăng ngày 20 tháng 11 năm 2014

Tóm tắt: Rhodamine B là một chất nhuộm màu trong công nghiệp, rất nguy hại tới sức khoẻ con người và bị cấm sử dụng trong thực phẩm vì khó phân huỷ. Dư lượng rhodamin B trong thực phẩm mẫu được tách ra bằng cách chiết pha rắn SPE, và sau đó được xác định bằng HPLC- UV với sử dụng cột ZORBAX Eclipse XDB - C18. Kết quả cho thấy phương pháp đưa ra là chính xác trong việc xác định dư lượng rhodamin B, và giới hạn định lượng là 0,05 mg/ml cho rhodamine B trong các mẫu thực phẩm. Phương pháp này cho giá trị thu hồi khoảng 90%. Nồng độ của phân tích được phát hiện trong các loại thực phẩm khác nhau, từ mẫu 5,99mg/g đối với satê, 7,41mg/g cho ớt bột và 13,37mg/g cho hạt dưa.

Từ khóa: Rhodamin B, high-performance liquid chromatography, food.

1. Đặt vấn đề

Trong quá trình chế biến thực phẩm, để tạo cho thực phẩm màu sắc đẹp, bắt mắt, người ta sử dụng phẩm màu công nghiệp [1]. Phẩm màu công nghiệp nói chung, rhodamine B nói riêng đều độc hại, bị cấm sử dụng trong thực phẩm vì khó phân huỷ. Tùy từng cơ thể mà ảnh hưởng đến gan, thận hoặc tồn dư lâu ngày gây độc hại đến cơ thể con người, đặc biệt có thể gây ung thư. Phẩm màu thực phẩm tự nhiên có độ bền kém hơn, lại đắt hơn phẩm màu công nghiệp. Do vậy nhiều người kinh doanh đã lạm dụng phẩm màu công nghiệp dù chất này từ lâu đã bị cấm sử dụng. Vì vậy việc nghiên cứu xác định hàm lượng của các rhodamin B, một thành

phần của phẩm nhuộm trong thực phẩm là vấn đề cần thiết đối với sức khỏe cộng đồng [2]. Những thực phẩm có chứa rhodamin B là hạt dưa, ớt bột, satê với hàm lượng rhodamin B thường chiếm tỷ lệ rất nhỏ tùy theo từng loại sản phẩm [4]. Do đó trong bài này chúng tôi đã tiến hành phân tích “Xác định dư lượng rhodamin B trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)” [3]. Để biết chính xác hơn hàm lượng rhodamin B trong một số loại thực phẩm như thế nào?

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Hóa chất và thiết bị

Cột sắc ký: cột ZORBAX Eclipse XDB - C₁₈ 4,6x150mm, 5 μ m; cân phân tích chính xác

* Tác giả liên hệ. ĐT: 84-946640960
E-mail: toiyueuoadhv@gmail.com

0,0001g; máy siêu âm, máy nghiền mẫu thực phẩm, máy ly tâm, các dụng cụ thủy tinh cần thiết khác. Màng lọc dung môi 0,45 μ m, các hóa chất: acetonitril, n-hexan, methanol, ethyl acetat, aceton, dichlormethan đều phải là loại tinh khiết phân tích đạt tiêu chuẩn cho HPLC, chất chuẩn rhodamin B (HPLC).

2.2. Phương pháp lấy mẫu

Các mẫu thực phẩm: hạt dưa, ớt bột, sate được lấy từ các cửa hàng tạp hóa và các chợ ở thành phố Vinh, tỉnh Nghệ An. Mỗi mẫu được lấy tối thiểu là 100 gam, đựng vào túi polyetylen sạch, bảo quản lạnh trong hộp xốp, đưa về phòng thí nghiệm. Tại phòng thí nghiệm, mẫu được tiến hành xử lý sơ bộ bằng máy nghiền mẫu sau đó được xử lý tiếp bằng phương pháp chiết chọn lọc với các dung môi thích hợp để thu được chất phân tích, mẫu còn lại được lưu giữ trong hộp nhựa kín có nắp và được bảo quản ở nhiệt độ 1 - 5 $^{\circ}$ C.

2.3. Kỹ thuật thực nghiệm

2.3.1. Điều kiện sắc ký

Cột sắc ký: cột ZORBAX Eclipse XDB-C18(4,6x150mm,5 μ m), pha động H₂O(0,05% H₃PO₄): acetonitril = 3:7, nhiệt độ lò cột 45 $^{\circ}$ C, tốc độ dòng 1ml/phút, detector UV bước sóng đầu dò 556nm.

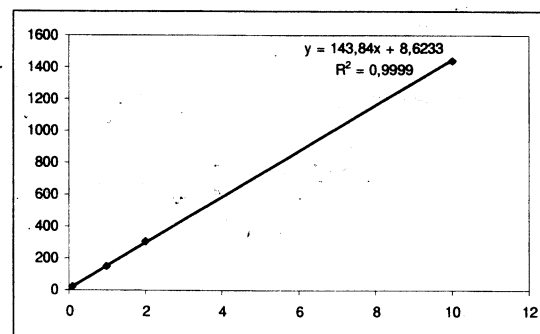
2.3.2. Xác định khoảng tuyến tính và đường chuẩn của rhodamin B

Dãy chuẩn rhodamin B được khảo sát có nồng độ như sau: 0,1; 1; 2; 10(ppm). Tiến hành chạy trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) từ kết quả thu được chúng tôi đã xây dựng phương trình hồi quy của đường chuẩn rhodamin B theo diện tích peak có dạng như sau:

$$y = 143,84x + 8,6233 \quad R^2 = 0,9999$$

Bảng 1. Diện tích peak của rhodamin B tương ứng với từng nồng độ chuẩn

Nồng độ chuẩn (μ g/ml)	Diện tích peak	a	b	R ²
0,1	19,47201			
1,0	149,44940			
2,0	304,07889	143,84	8,6233	0,9999
10	1445,83716			



Hình 1. Đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích peak và nồng độ chuẩn rhodamin B.

2.3.3. Chuẩn bị mẫu

Đối với mẫu hạt dưa và ớt bột, cân 5g mẫu thử chính xác đến 1mg cho vào ống ly tâm 50ml và chiết bằng 40ml ACN: H₂O = 70:30, lắc rung trong 3 phút cho mẫu hòa trộn đều với hỗn hợp ACN: H₂O, siêu âm trong 15 phút, ly tâm trong 15 phút ở tốc độ 5000 vòng/phút và định lượng rhodamin B bằng HPLC [5].

Đối với mẫu sa tế, cân 5g mẫu thử chính xác đến 1mg, cho vào ống ly tâm 50ml và chiết bằng 30ml MeOH: H₂O = 70:30, lắc rung trong 3 phút, ly tâm trong 15 phút ở tốc độ 5000 vòng/ phút. Lấy 6ml (tương đương 1g mẫu) dung dịch phía trên cho vào ống ly tâm thứ hai, thêm nước cất đến vạch 30ml (ly tâm lại dung dịch sau khi pha loãng, nếu dịch pha loãng bị đục). Cho dịch chiết qua cột SPE đã được hoạt hóa lần lượt bằng 3ml ethyl acetate, 3ml acetonitril và 3ml nước cất, cho mẫu vào, sau đó hút đến khô cột. Rửa cột bằng 2,5ml (2lần) hỗn hợp H₂O:ACN=9:1, rút chân không đến khi khô cột. Rửa giải bằng 5ml aceton:dichlormethan=2:8, thổi khô, định mức bằng 2ml acetonitrile. Định lượng rhodamin B bằng HPLC [6].

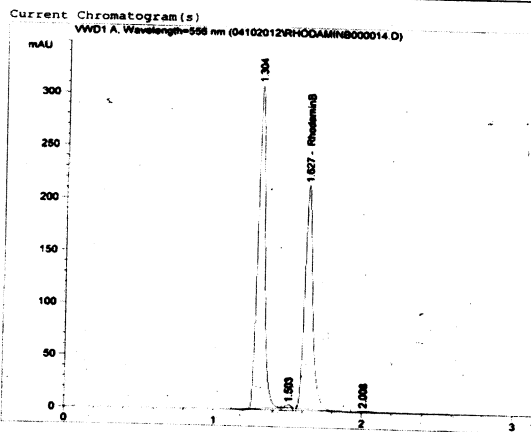
3. Kết quả và thảo luận

3.1. Xác định hàm lượng chuẩn rhodamin B trong mẫu các mẫu thực phẩm

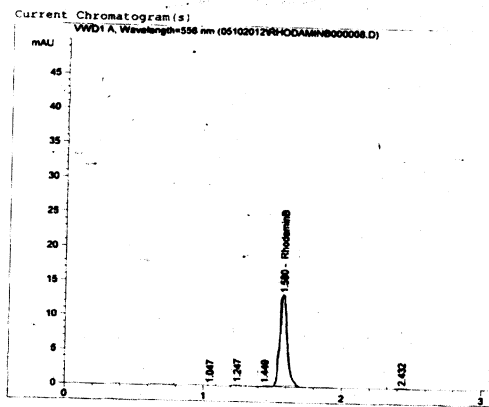
Sau khi tiến hành phân tích các mẫu thực phẩm hạt dứa, ớt bột, sa tế trên máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), chúng tôi thu được kết quả ở bảng 2 và hình 2, 3, 4.

Bảng 2. Kết quả phân tích hàm lượng rhodamin B trong mẫu hạt dứa, ớt bột và sa tế

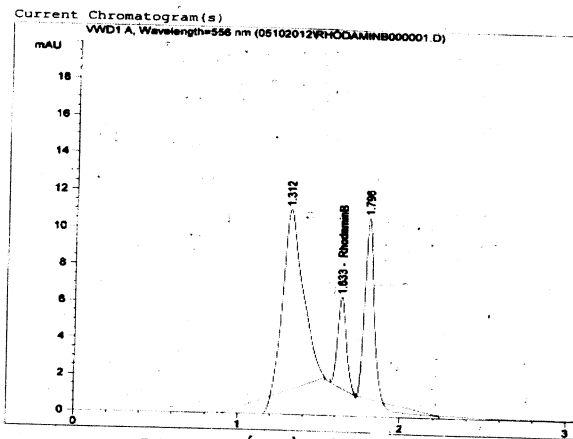
Mẫu	Các mẫu	Khối lượng mẫu (g)	Diện tích pic	C (mg/g)
1	Hạt dứa	5,0008	823,42523	13,37
2	Ớt bột	5,0012	18,61658	7,41
3	Sa tế	5,0006	49,29171	5,99
4	Hạt dứa thêm chuẩn	5,0009	1176,11975	15,23



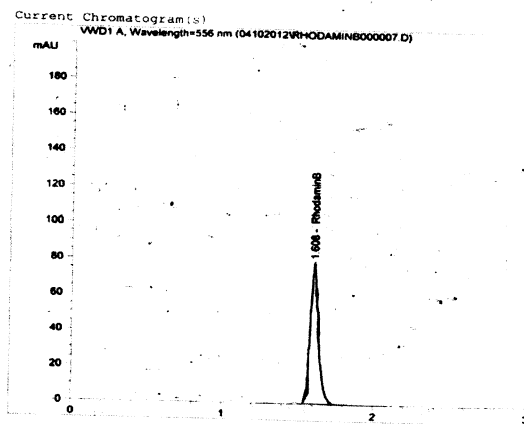
Hình 2. Sắc đồ mẫu hạt dứa.



Hình 3. Sắc đồ mẫu sa tế.



Hình 4. Sắc đồ mẫu ớt bột.



Hình 5. Sắc đồ rhodamin B chuẩn 2ppm.

3.2. Đánh giá phương pháp định lượng

3.2.1. Giới hạn phát hiện (limit of detection- LOD)

Giới hạn phát hiện (LOD) được định nghĩa là nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích

mà có tín hiệu sắc ký lớn gấp 3 lần tín hiệu đường nền. LOD = tín hiệu chiều cao pic/nhiều đường nền ≥ 3 .

Từ đó xác định giới hạn phát hiện của phương pháp LOD=0,05(mg/kg).

nẫu thực
ký lỏng
được kết

3.2.2. Giới hạn định lượng (limit of quantity- LOQ)

Giới hạn định lượng (LOQ) là nồng độ nhỏ nhất đo được của phương pháp, đó là nồng độ tối thiểu của một chất trong một nền mẫu xác định mà thiết bị có thể đo đúng được với một RSD% quy định nồng độ chất phân tích mà cho tín hiệu gấp 10 lần tín hiệu đường nền $LOQ = 10 \cdot SB/b$. Trong đó:

b là hệ số góc của phương trình hồi quy, SB là độ lệch chuẩn của mẫu trắng, cũng được

xác định theo phương trình hồi quy. Như vậy theo phương trình hồi quy ta có: $LOQ = 0,05 \mu\text{g/ml}$.

3.2.3. Đánh giá hiệu suất thu hồi của phương pháp

Độ thu hồi của phương pháp cũng được xác định bằng cách tiến hành phân tích 3 lần lặp lại đối với mẫu hạt dưa đã được tiến hành tách chiết theo quy trình xử lý và phân tích mẫu với nồng độ thêm chuẩn là 2ppm. Kết quả thu được ghi ở bảng 3:

Bảng 3. Kết quả xác định hiệu suất thu hồi của phương pháp

Mẫu	Số lần	m (mg)	$C_{mẫu}(\text{mg/g})$	H%
1	1	5,0008	13,37	
	1	5,0012	15,23	93,1
2	2	5,0021	15,16	89,5
	3	5,0017	15,19	91,2

Qua kết quả phân tích cho thấy, hiệu suất thu hồi cao, tỷ lệ % tìm lại chất phân tích $H_{tb}(\%) = 91,26\%$ đáp ứng yêu cầu phân tích.

4. Kết luận

Đã xây dựng được phương pháp định lượng rhodamin B bằng phương pháp HPLC, với các điều kiện sắc ký như ở trên.

Đã tiến hành đánh giá phương pháp định lượng và cho thấy phương pháp thỏa mãn tính thích hợp của hệ thống sắc ký, tính chính xác, tính tuyến tính, tính đúng, tính đặc hiệu.

Đã định lượng được rhodamin B trong một số thực phẩm.

Tài liệu tham khảo

- [1] Nguyễn Đức Thu, "Thực trạng sử dụng hàn the và phẩm màu trong một số sản phẩm thức ăn truyền thống tại tỉnh Hà Tây", Tạp chí y học thực hành, (2005) 1219.
- [2] Sumita Dixit, S.K. Purshottam, S.K. Khanna and Mukul Das, "Usage pattern and exposure assessment of food colours in different age groups of consumed in the State of Uttar Pradesh, India". Food Additives and Contaminant, 27(2) (2010) 181.
- [3] Nadia Ashfaq, Tariq Masud, "Surveillance on artificial colours in different ready to eat foods", Pakistan J.Nutrition, 1(5) (2002) 223.
- [4] R.W. Mason, L.R.Edwards, "High-performance liquid chromatographic determination of rhodamine B in rabbit and human", J. Chromatography, 491 (1989) 468.
- [5] Petr Botek, Jan Poušitka and Jana HaJšlová, "Determination of Banned Dyes in Spices by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry", Czech J. Food Sci, Vol 25 (2007) 17.
- [6] T.L. Chiang, Y.C. Wang and W.H. Ding.W.H, "Trace Determination of Rhodamine B and Rhodamine 6G Dyes in Aqueous", J. Chin. Chem. Soc, 59 (2011) 1.

hiệu
nhiều

của