

XÁC ĐỊNH SUDAN I TRONG MỘT SỐ LOẠI GIA VỊ BẰNG KỸ THUẬT SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

BÙI TH NGOAN, TRẦN THỊ NG,
ÀO T. QUYẾN, PHẠM VĂN HOAN
Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia

TÓM TẮT

Nhân viên nghiên cứu, vệ sinh an toàn thực phẩm là một trong những vấn đề quan tâm. Bên cạnh đó, các kỹ thuật phân tích vô cùng quan trọng ảnh hưởng đến chất lượng thực phẩm, bảo vệ người tiêu dùng và giá trị cho nhà sản xuất. Xu hướng phát triển lý do trên, nhóm nghiên cứu đã tìm kiếm kỹ thuật nghiên cứu tự động quy trình phân tích Sudan I trong một số loại gia vị áp dụng cho các loại phòng thí nghiệm tự động.

Từ khóa: Sudan, gia vị thực phẩm

SUMMARY

In recent year, food safety and sanitary is common care issue. Beside that, analyzing technics is very important to determine food quality, protect customer and safe prestige for the manufacturer. Start with these reasons, researchers have looked for research conditions to give standard analyzing process in some kind of spices applicated in province-line laboratories.

Keywords: food safety, spices applicated.

TỔNG KẾT

Sudan là chất nhuộm màu mono azo tan trong dầu, có màu đỏ và nhuộm màu trong công nghiệp, trong nghiên cứu vi sinh, hóa học [6] và trong thực phẩm. Sudan có thể được sử dụng trong nghiên cứu ứng dụng, xếp vào loại 3 không độc phép dùng trong thực phẩm [2]. Sudan gồm 4 loại Sudan I, Sudan II, Sudan III và Sudan IV. Các Sudan được chia thành các hợp chất azo (chất có liên kết N=N- trong cấu trúc phân tử) và naptols.

Ảnh hưởng của việc tìm thấy chất màu Sudan I có thể được trong thực phẩm làm chất nhuộm màu, trong số các loại thực phẩm có chứa Sudan I như: Bột mì, tinh bột, cari, bánh pizza, mì ăn liền, ngũ cốc... Các nghiên cứu cho rằng Sudan I tác động phá vỡ cấu trúc ADN và nhiễm sắc thể khi đưa vào nuôi cấy tế bào [8], một số thí nghiệm trên thực vật cho thấy Sudan I gây ung thư khi dùng qua đường uống. Khi Sudan I vào cơ thể chuyển hóa thành amin thơm thì gây ung thư có phần chuyển hóa loại Sudan nguyên thủy gây ung thư gan mạnh, tiếp theo Sudan và dẫn xuất của nó tác động mạnh mẽ đến quá trình sinh hóa của tế bào. Cho nên nay vấn đề có quy định hạn chế hàm lượng của các chất Sudan trong thực phẩm, những các nhà khoa học đã nghiên cứu minh chứng về hiệu quả của kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao để phân tích, vì vậy Trung Quốc, Canada, Úc, Mỹ, Anh, Nhật Bản và một số nước

thuộc khối EU cũng lưu hành thực phẩm chứa Sudan do không gây ung thư cho chúng [4].

Mới đây Việt Nam có thêm 150 ngàn người mắc bệnh ung thư trong đó khoảng 50 ngàn người mắc bệnh do dùng phụ phẩm ô nhiễm. Do ý thức quan tâm của công dân, môi trường và thực phẩm ngày càng ô nhiễm nhiều hơn nên cần phải làm những thí nghiệm và gia tăng sự giám sát bệnh ung thư để biết vì sao mà các chất phụ gia trong thực phẩm bị cấm do không hiệu quả thì sẽ sử dụng Sudan làm thuốc màu... Điều này hết sức nguy hiểm vì sức khỏe người tiêu dùng và gia tăng góp phần làm gia tăng tỷ lệ mắc bệnh ung thư trong cộng đồng.

Hiện Việt Nam đã có một số công trình nghiên cứu về vấn đề Sudan nhuộm nhuộm các chất Vn Quân [1] nghiên cứu các chất này, nên việc chuẩn hóa có một quy trình chuẩn áp dụng cho phòng thí nghiệm để phân loại các chất, tiêu chuẩn ghi nhận hàm lượng các loại phụ phẩm Sudan trong thực phẩm công nghiệp hàng tiêu dùng... của Việt Nam cũng cần có và nên quy định tiêu chuẩn liên quan tới sức khỏe cộng đồng.

Một tiêu chuẩn nghiên cứu là chuẩn hóa các kỹ thuật xác định Sudan I trong gia vị bằng kỹ thuật sắc ký lỏng hiệu năng cao

LIÊN HỆ TÁC GIẢ VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Địa chỉ: Các loại thực phẩm như: tinh bột, tinh bột, tinh bột...

- Kỹ thuật áp dụng: Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector UV - VIS

1. Nguyên tắc: Sudan I hòa tan trong methanol, dichloro, ly tâm, lấy dung dịch xác định bằng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao UV - VIS bước sóng 480nm.

2. Phạm vi áp dụng: Xác định Sudan I trong tinh bột, tinh bột, tinh bột...

3. Thiết bị và dụng cụ

3.1. Thiết bị

Máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) detector UV - VIS

Cột pha đảo RP C18 Symetry, 5µm (150mm x 4,6mm).

3.2. Dung dịch

Cân phân tích: chính xác 0,0001g; cân kỹ thuật: 0,01g; dung tích 100mL, bình định mức 50, 100, 1000mL và các dụng cụ cần thiết của phòng thí nghiệm

4. Hóa chất, dung dịch chuẩn

4.1. Dung dịch chuẩn Sudan I (Hãng cung

c p labochema – Czech tinh khi t 99%)
 Dung d ch chu n g c Sudan I 1000ppm: Cân 0,1000g Sudan I vào bình nh m c 100mL nh m c n v ch b ng methanol, l c k h n h p b o qu n l nh trong i u ki n tránh ánh sáng, dung d ch dùng trong 1 tháng.

4.2. Hoá ch t

- N c c t (H₂O), Methanol (MeOH), Acetonitril (ACN) lo i dùng cho HPLC, Axít foomic (H- COOH) lo i PA

- Dung d ch axít foomic 1%: Hoà tan 10mL Hoà tan 10mL axít foomic vào bình nh m c 100mL, nh m c b ng n c c t n v ch, l c u, l c qua màng l c dung môi 0,45µm. Dung d ch này dùng làm pha ng.

5. Ti n hành thí nghi m

5.1. Chu n b chu n Sudan I

Dung d ch Sudan I chu n làm vi c 1ppm: Pha t dung d ch chu n g c 1000ppm

5.2. Chu n b m u

- M u khô: tr n và nghi n k b ng máy nghi n th c ph m.

- M u t: ng nh t k

M u b o qu n kín trong túi b c tránh ánh sáng n khi phân tích

Cân 5 ± 0,01g m u t khô (10 g m u t) vào c c có m 250mL, thêm 30 mL methanol, l c 30 giây, yên 30 phút th nh tho ng l c nh , chuy n m u vào bình nh m c 50mL, tráng c c b ng methanol và nh m c t i v ch, l c m nh dung d ch, l c qua gi y l c thô, ly tâm, b m vào máy s c ký.

5.3. Xác nh b ng s c ký l ng (HPLC)

- i u ki n ti n hành s c ký: C t s c ký Symetry C₁₈ (15 cm x 4,6 mm), kích th c h t 5µm ho c t ng ng

+ Pha ng: ACN: 1% axít foomic trong n c = 90: 10 (v/v)

+ Detector UV - VIS: b c sóng 480nm, nhi t c t 30°C

+ T c dòng: 1mL/phút, th tích b m : 60µL.

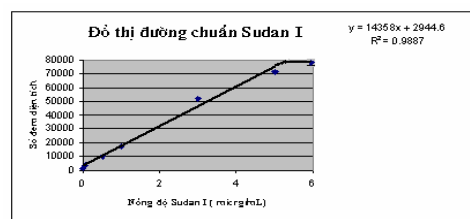
K T QU VÀ BÀN LU N

1. Xác nh kho ng tuy n tính

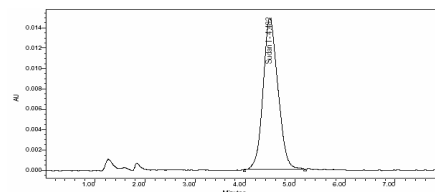
Pha d y chu n Sudan I có n ng t : 0,002; 0,05; 0,5; 1,0; 5,0mg/L v ng chu n v i s t ng quan gi a n ng và di n tích pic c th hi n b ng 1, hình 1, hình 2.

B ng 1: Di n tích pic c a chu n Sudan I t ng ng v i n ng t 0,002- 5µg/mL

N ng (µg/mL)	Chi u cao pic (s m)
0,002	991
0,05	3944
0,5	9775
1,0	16993
3	51677
5,0	71432
6,0	79989



Hình 1: ng chu n Sudan I

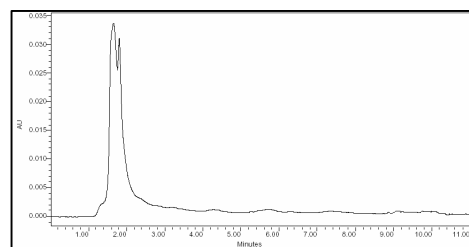


Hình 2: S c chu n Sudan I n ng 0,01 ppm

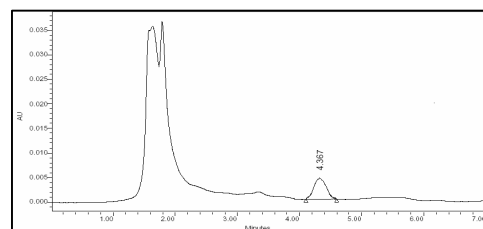
Kho ng tuy n tính c a chu n t 0,002-5ppm v i h s t ng quan là: R²: 0,9887

6.2. Xác nh gi i h n phát hi n và gi i h n nh l ng

Ti n hành n p chu n Sudan I có n ng t 0,002- 0,003-0,004-0,005ppm vào m u tr ng, k t qu kh o sát cho th y n ng 0,002ppm có tín hi u pic v i chi u cao g p 3 l n nhi u ng n n, nh v y n ng 0,002 ppm là gi i h n phát hi n c a Sudan I (hình 3,4) và gi i h n nh l ng là 0,006ppm.



Hình 3: S c m u tr ng



Hình 4: S c gi i h n phát hi n n ng 0,002ppm

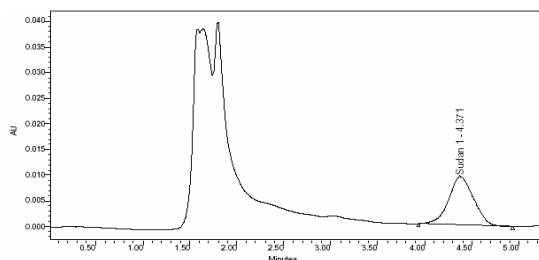
6.3. Kh o sát thu h i

L y 5 g m u r n (ho c 10 g m u l ng) vào bình nh m c 50mL, sau ó cho thêm chu n Sudan I 10ppm (0,01 mg/mL) v i các th tích 250µL; 2,5mL; 5,0mL ta c các n ng t ng ng 0,05ppm (m u M1), 0,5ppm (m u M2), 1ppm (m u M3)

X lý m u theo quy trình trên, m i n g c th c h i n 5 l n, tính giá tr trung bình các n ng kh o sát. K t qu c th h i n b ng 2, hình 5

B ng 2: K t qu xác nh hàm l ng Sudan I thu l i sau khi phân tích

M u	N ng Sudan I trong các m u ban u (ppm)	S l n thí nghi m	thu h i TB (%)
M u M1	0,05	5	83,6
M u M2	0,5	5	84,4
M u M3	1	5	91,2



Hình 5: S c m u chu n 1ppm

6.4. Xác nh l ch chu n và h s bi n thiên c a ph ng pháp

L y 5g m u r n (ho c 10g m u l ng) vào bình nh m c 50mL, sau ó cho thêm chu n Sudan I 10ppm (0,01 mg/mL) v i các th tích 250 μ L; 2,5mL; 5,0mL ta c các n ng t ng ng 0,05ppm (m u X1), 0,5ppm (m u X2), 1ppm (m u X3). X lý m u theo quy trình trên r i t i n hành ó 3 l n trong 1 m u th trong cùng m t i u ki n phân tích, cùng hóa ch t thi t b nh ng có 2 ng i phân tích, trong nh ng ngày khác nhau. K t qu c th h i n b ng 3

B ng 3: l ch chu n S_d và h s bi n thiên C_v c a m u phân tích

S l n thí nghi m	Hàm l ng Sudan I n p vào 5 g m u (ng/g)	Hàm l ng Sudan I trung bình thu l i trong 5 g m u (ng/g)	S _d c a 5 m u	C _v (%)
X1	0,05	0,0418	0,0019	4,5
X2	0,5	0,422	0,0084	1,99

X3	1,0	0,912	0,0084	0,921
----	-----	-------	--------	-------

Nh n xét: n ng th p, h s bi n thiên C_v càng l n, cho th y s dao ng k t qu trong các m u thí nghi m l n (sai s càng l n)

K T LU N

Nhóm nghi n c u ã a ra c quy trình phân tích Sudan I trong th c ph m v i thu h i trên 80% và gi i h n nh l ng 0,006ppm. Quy trình này phù h p cho tuy n t nh có thi t b HPLC và detector UV - VIS

TÀI LI U THAM KH O

1. V n Quân (2007). “ Xác nh các h p ch t Sudan b ng ph ng pháp s c ký l ng có phân gi i cao” Lu n v n th c s khoa h c, i h c Qu c Gia Hà N i

2. Food standard Agency of UK “Collaborative trial 145 of A Method for the detection and determination of Sudan I in chilli products by HPLC”

3. Mazzetti. M (2004). Determination of 1-phenylazo-2-naphthol (Sudan I) in chilli powder and in chilli-containing food products by GPC clean-up and HPLC with LC/MS confirmation. Food addit. Contam.21: (935-941)

4. Stiborova M. et al (2002), “ Sudan I is a potential carcinogen for humans: evidence for its metabolic activation and detoxication by human recombinant cytochrome P450 1A1 and liver mecosomes”, Cancer Res, 62(20), pp. 678-684.

6. Tateo. F * and Bononi. M (2004),” Fast Determination of Sudan I by HPLC/APCI-MS in Hot Chilli, Spices, and Oven-Baked Foods”, Agric.food chem, 52(4) , pp 655-658

7. Luli, Hong-Wen Gao, Jiao-Rong Ren (2007), “ Binding of Sudan II and IV to lecithin liposomes and E. coli membranes: insights into the toxicity of hydrophobic azo dyes”, Research article.

8. Yuan An et al (2007), “ Sudan I induces genotoxic effects and oxidative DNA damage in HepG2 cells”, Mutat Res,627(2),pp.164-70