

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM**

PHẠM THANH TÙNG

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI ASPARTAME
VÀ SACCHARIN TRONG MỘT SỐ LOẠI ĐỒ UỐNG
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

THÁI NGUYÊN - 2020

ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC SƯ PHẠM

PHẠM THANH TÙNG

NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI ASPARTAME
VÀ SACCHARIN TRONG MỘT SỐ LOẠI ĐỒ UỐNG
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Ngành: Hoá Phân tích

Mã số: 8.44.01.18

LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA HỌC

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS Dương Thị Tú Anh

THÁI NGUYÊN - 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan rằng, số liệu và kết quả nghiên cứu trong luận văn này là trung thực và chưa hề được sử dụng trong bất cứ một công trình nào. Tôi xin cam đoan rằng, mọi sự giúp đỡ cho việc thực hiện luận văn này đã được cảm ơn và các thông tin trích dẫn trong luận văn đều đã được chỉ rõ nguồn gốc.

Thái Nguyên, tháng 6 năm 2020

Tác giả luận văn

Phạm Thanh Tùng

LỜI CẢM ƠN

Em xin gửi lời cảm ơn sâu sắc tới Cô giáo **PGS.TS Dương Thị Tú Anh**, người đã tận tình giúp đỡ, chỉ dẫn em trong suốt quá trình nghiên cứu và thực hiện luận văn.

Em xin gửi lời cảm ơn chân thành tới Ban chủ nhiệm Khoa, các Thầy Cô giáo Khoa Hóa học - Trường Đại học Sư phạm - Đại học Thái Nguyên đã trang bị, chỉ bảo cho em những kiến thức quý báu trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thiện luận văn.

Đặc biệt, em xin chân thành cảm ơn Ban giám đốc Trung tâm, các cán bộ phòng thí nghiệm - Trung tâm kiểm tra an toàn thực phẩm tỉnh Quảng Ninh, đã tạo điều kiện cho em trong quá trình nghiên cứu thực nghiệm và hoàn thiện luận văn.

Do thời gian có hạn và trình độ còn hạn chế, luận văn này không tránh khỏi những thiếu sót. Em rất mong được sự đóng góp ý kiến của thầy cô để luận văn này được hoàn thiện hơn.

Thái Nguyên, tháng 6 năm 2020

Tác giả

Phạm Thanh Tùng

MỤC LỤC

Lời cam đoan	i
Lời cảm ơn	ii
Mục lục	iii
Danh mục các từ viết tắt của luận văn	v
Danh mục các bảng	vi
Danh mục các hình	vii
MỞ ĐẦU	1
Chương 1: TỔNG QUAN	3
1.1. Tổng quan về hợp chất nghiên cứu	3
1.1.1. Tổng quan về Aspartame	3
1.1.2. Tổng quan về Saccharine	5
1.2. Một số phương pháp xác định saccharin, và aspartame	7
1.2.1. Phương pháp chuẩn độ	8
1.2.2. Phương pháp quang phổ	8
1.2.3. Phương pháp điện di mao quản (CE)	8
1.2.4. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao	9
1.3. Tổng quan các công trình nghiên cứu xác định saccharin và aspartam	10
1.3.1. Ở Việt Nam	10
1.3.2. Trên thế giới	11
Chương 2: THỰC NGHIỆM VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	16
2.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất	16
2.1.1. Thiết bị và dụng cụ	16
2.1.2. Hóa chất, thuốc thử	17
2.2. Thực nghiệm	18
2.2.1. Phương pháp lấy mẫu và xử lý mẫu phân tích	18
2.2.2. Khảo sát các điều kiện tối ưu xác định hàm lượng Aspartame và Saccharin bằng phương pháp Sắc ký lỏng hiệu năng cao	18

2.2.3. Xác định độ lặp, khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng của phương pháp.....	20
2.3. Quá trình phân tích	22
2.4. Phương pháp xử lý số liệu.....	24
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN	25
3.1. Kết quả nghiên cứu, khảo sát các điều kiện tối ưu xác định Aspartame và Saccharin bằng phương pháp Sắc ký lỏng hiệu năng cao.....	25
3.1.1. Lựa chọn detector	25
3.1.2. Khảo sát lựa chọn bước sóng.....	25
3.1.3. Lựa chọn cột tách.....	26
3.1.4. Lựa chọn pha động	26
3.1.5. Khảo sát pH của pha động	27
3.2. Kết quả xác định độ lặp, khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng của phương pháp.....	30
3.2.1. Kết quả nghiên cứu tính phù hợp của hệ thống	30
3.2.2. Độ đặc hiệu, tính chọn lọc của phương pháp.....	31
3.2.3. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị đo	32
3.2.4. Khoảng tuyến tính	35
3.3. Áp dụng phân tích mẫu thực	38
3.3.1. Thời gian, địa điểm lấy mẫu	38
3.3.2. Kết quả phân tích mẫu.....	39
3.3.3. Độ thu hồi chất phân tích của phương pháp	46
KẾT LUẬN	52
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN VĂN	56
TÀI LIỆU THAM KHẢO	53
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT CỦA LUẬN VĂN

ACN	Acetonitril
ADI	Acceptable daily intake (lượng ăn vào hằng ngày có thể chấp nhận được)
AOAC	Assosiation of Official Analytical Chemists (Hiệp hội các nhà hóa phân tích chính thức)
Asp	Aspartam
ATVSTP	An toàn vệ sinh thực phẩm
BYT	Bộ y tế
DAD	Diode Array Detector (Detector mảng diod)
ĐKTN	Điều kiện thí nghiệm
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Sắc ký lỏng hiệu năng cao)
LOD	Limit of Detection (Giới hạn phát hiện)
LOQ	Limit of Quantification (Giới hạn định lượng)
MeOH	Methanol
ppm	Nồng độ ppm (mg/kg; mg/L; mL/L)
R (%)	Độ thu hồi (đơn vị %)
RSD	Relative standard deviation (Độ lệch chuẩn tương đối)
S/N	Signal to noise ratio (Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu)
Sac	Saccharin
TCVN	Tiêu chuẩn Việt Nam.
UV-VIS	Ultraviolet - Visible (Tử ngoại khả kiến)

DANH MỤC CÁC BẢNG

Bảng 3.1.	Tính chất của một số loại dung môi dùng làm pha động.....	19
Bảng 3.2.	Giá trị diện tích pic của saccharin và aspartame phụ thuộc vào pH của dung dịch đệm	29
Bảng 3.3.	Các điều kiện thí nghiệm thích hợp cho phép phân tích xác định saccharin và aspartame bằng phương pháp HPLC	30
Bảng 3.4.	Kết quả tính toán sự phù hợp của hệ thống	30
Bảng 3.5.	Hệ số tách và độ phân giải của pic các chất phân tích.....	32
Bảng 3.6.	Giá trị xác định LOD của thiết bị đo với Saccharin	33
Bảng 3.7.	Giá trị xác định LOD của thiết bị đo với Aspartame.....	34
Bảng 3.8.	Giá trị xác định LOQ của thiết bị đo với Saccharin	34
Bảng 3.9.	Giá trị xác định LOQ của thiết bị đo với Aspartame.....	35
Bảng 3.10.	Giới hạn phát hiện của thiết bị đối với saccharin và aspartame	35
Bảng 3.11.	Sự phụ thuộc của diện tích pic vào nồng độ chất phân tích.....	36
Bảng 3.12.	Phương trình hồi quy và hệ số tương quan của đường chuẩn	37
Bảng 3.13.	Địa điểm, thời gian lấy mẫu.....	38
Bảng 3.14.	Kết quả phân tích hàm lượng saccharin trong mẫu thực (n=5)	39
Bảng 3.15.	Kết quả phân tích lặp lại hàm lượng aspartame trong mẫu thực (n=5)	43
Bảng 3.16.	Kết quả xác định độ thu hồi Saccharin của phương pháp trên các mẫu phân tích	47
Bảng 3.17.	Kết quả xác định độ thu hồi Aspartame của phương pháp trên các mẫu phân tích	49

DANH MỤC CÁC HÌNH

Hình 1.1.	Thời gian lưu của chất phân tích.....	9
Hình 2.1.	Hệ thống HPLC của hãng SHIMADZU	16
Hình 2.2.	Sơ đồ phân tích saccharin và aspartame bằng phương pháp HPLC	24
Hình 3.1.	Sắc ký đồ xác định bước sóng hấp thụ quang cực đại của saccharin và aspartame.....	25
Hình 3.2.	Sắc đồ phân tích hỗn hợp chất bằng cột C18 (250mm×4,6mm× 5µm)	26
Hình 3.3.	Sắc đồ phân tích hỗn hợp saccharin và aspartame.....	27
Hình 3.4.	Sắc ký đồ của hỗn hợp saccharin và aspartame tại pH = 3,0	27
Hình 3.5.	Sắc ký đồ của hỗn hợp saccharin và aspartame tại pH = 3,5	28
Hình 3.6.	Sắc ký đồ của hỗn hợp saccharin và aspartame tại pH = 4,0	28
Hình 3.7.	Sắc ký đồ của hỗn hợp saccharin và aspartame tại pH = 4,5	29
Hình 3.8.	Sắc đồ của mẫu trắng (A) và mẫu trắng có thêm chuẩn (B).....	31
Hình 3.9.	Sắc đồ LOD của thiết bị đối với saccharin	33
Hình 3.10.	Sắc đồ LOD của thiết bị đối với aspartam.....	33
Hình 3.11.	Đường chuẩn của saccharin trong khoảng nồng độ 0,2 ÷ 200 ppm	37
Hình 3.12.	Đường chuẩn của aspartam trong khoảng nồng độ 0,5 ÷ 100 ppm	37
Hình 3.13.	Hàm lượng SCR và ASP trong các mẫu phân tích	45

MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, vấn đề vệ sinh an toàn thực phẩm luôn thu hút được sự quan tâm của toàn xã hội, của mọi quốc gia trên thế giới. Cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật, nhiều kỹ thuật mới, hiện đại đã và đang được áp dụng để tạo ra những sản phẩm mới với chất lượng đáp ứng nhu cầu ngày càng cao của người tiêu dùng. Tuy nhiên để tạo ra nhiều sản phẩm phù hợp với sở thích và khẩu vị của người tiêu dùng mà vẫn giữ được chất lượng toàn vẹn của thực phẩm cho đến khi sử dụng, trong quá trình chế biến, nhà sản xuất đã sử dụng các phụ gia thực phẩm để tăng giá trị thương phẩm và kéo dài thời gian sử dụng. Gần đây, liên tiếp xảy ra các vụ ngộ độc tại nhiều địa phương trên toàn quốc, cũng như việc xuất hiện nhiều mặt hàng không rõ nguồn gốc xuất xứ hoặc sử dụng những phụ gia ngoài danh mục cho phép hay sử dụng quá hàm lượng cho phép. Tác hại do sử dụng phụ gia sai quy định có thể ảnh hưởng đối với sức khỏe con người. Những tác động này thường không xảy ra cấp tính, rầm rộ và nguy kịch mà diễn biến lâu dài do tích lũy trong cơ thể. Theo báo cáo của Bộ Y tế, trong tháng 5-2019, toàn quốc đã xảy ra 8 vụ ngộ độc thực phẩm làm 218 người nhập viện, trong đó có 2 trường hợp tử vong.

Đường là loại gia vị vô cùng quen thuộc với mọi người, gần như mọi món ăn hàng ngày đều không thể thiếu gia vị đường. Vì đường mang lại hương vị ngọt ngào, hấp dẫn cho khẩu giác. Nhưng bên cạnh đó, đường cũng làm tăng nguy cơ cho những bệnh béo phì hay tiểu đường, vì thế do yêu cầu thực phẩm đặc biệt dành cho những người mắc bệnh này thì từ lâu người ta đã thấy cần phải sản xuất thực phẩm với hàm lượng đường thấp hơn. Tuy nhiên chỉ đơn thuần là giảm hàm lượng đường trong công thức chế biến thì không thể cho hiệu quả mong muốn, vì thế người ta cần phải sử dụng các chất tạo ngọt khác, đảm bảo vị ngọt cần thiết mà không làm tăng lượng calo của thực phẩm. Từ đó một số chất tạo ngọt nhân tạo thay thế đã được tổng hợp và sử dụng ngày càng phổ biến. Không chỉ thực phẩm dành cho người ăn kiêng mới sử dụng đường hóa học, hiện nay nhiều loại thực phẩm và đồ uống bán trên thị trường được sử dụng đường hóa học để tạo độ ngọt cao, chi phí sản xuất thấp và lợi nhuận cao. Nhưng chỉ có một số chất tạo ngọt được phép sử dụng trong chế biến thực phẩm với giới hạn tối