

# XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRAT TRONG MỘT SỐ MẪU RAU CỦ QUẢ THEO PHƯƠNG PHÁP TRẮC QUANG SỬ DỤNG THUỐC THỬ AXIT SALISYLIC

DETERMINING THE CONTENT OF NITRATE IN SOME VEGETABLES BY THE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD USING SALISYLIC ACID REAGENT

Nguyễn Thị Thu Phương\*,  
Đào Thu Hà, Trần Thị Yến

## TÓM TẮT

Bài báo đã khảo sát các điều kiện thích hợp trong phương pháp xác định nitrat bằng phương pháp trắc quang xác định nitrat sử dụng thuốc thử axit salicylic: Bước sóng 410 nm, thời gian tạo màu 20 - 30 phút, thể tích của dung dịch axit salicylic 5% là 0,4 - 1ml, pH = 12 - 14. Phương pháp có khoảng nồng độ tuyến tính là 0,2ppm đến 1,00ppm. Phương pháp có độ lặp lại tốt (RSD = 2,87%; n = 10), giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng thấp (LOD = 0,012ppm; LOQ = 0,041ppm). Đã ứng dụng phương pháp phân tích hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  trong một số mẫu rau củ quả trên địa bàn Hà Nội cho kết quả tốt.

**Từ khóa:** Nitrat, axit salicylic, rau củ quả, phương pháp trắc quang.

## ABSTRACT

The article investigated the appropriate conditions for the determination of nitrate by the photometric method using salicylic acid reagent: wavelength 410 nm, coloration time 20 - 30 minutes, volume of salicylic acid solution 5% is 0.4 - 1ml, pH is 12 - 14. The method has a linear concentration range of 0.2ppm to 1.00ppm. The method has good repeatability (RSD = 2,87%; n = 10), low detection limit and low quantification (LOD = 0.012ppm, LOQ = 0.041ppm). The method was applied to the nitrate content analysis in some vegetables in Ha Noi area for good results.

**Keywords:** Nitrate, salicylic acid, vegetable, spectrophotometric method.

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

\*Email: phuongnguyen@hau.edu.vn

Ngày nhận bài: 20/01/2019

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 25/4/2019

Ngày chấp nhận đăng: 24/6/2020

## 1. MỞ ĐẦU

Rau củ quả là loại thực phẩm rất cần thiết cung cấp nhiều vitamin như Vitamin A, B, C, D, E... và các chất khoáng như: Ca, K, P... cần thiết cho sự phát triển của con người. Tuy nhiên trong các loại rau củ quả đều luôn chứa các thành phần của nitơ với những dạng khác nhau như nitrat, nitrit, amoni, protein và các dạng chất hữu cơ khác,

trong đó nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) là dạng oxy hóa cao nhất trong chu trình nitơ và thường đạt đến nồng độ đáng kể trong giai đoạn cuối cùng của quá trình oxy hóa sinh học. Hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  trong rau củ quả vượt quá giới hạn cho phép sẽ gây nhiều tác hại cho cơ thể con người. Như vậy, để đảm bảo rau củ quả sạch và an toàn thì việc xác định hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  trong rau củ quả có ý nghĩa rất quan trọng. Có nhiều phương pháp định lượng  $\text{NO}_3^-$  trong rau củ quả như phương pháp thể tích, phương pháp điện thế dùng điện cực chọn lọc ion, phương pháp trắc quang, phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao... [1-5, 7], trong đó phương pháp trắc quang là phương pháp dễ thực hiện, thiết bị dễ sử dụng, độ chính xác cao. Trong phương pháp trắc quang đã sử dụng nhiều thuốc thử khác nhau để phân tích  $\text{NO}_3^-$  trong rau củ quả như thuốc thử disunfophenic, sử dụng cột khử Cd sau đó dùng thuốc thử  $\alpha$ - naphthylamin... tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào tại Việt Nam sử dụng thuốc thử axit salicylic. Trên thế giới, tác giả Lastra OC [8], tác giả Takushi Hachiya và Yuki Okamoto [9] đã sử dụng thuốc thử axit salicylic để phân tích hàm lượng nitrat trong cây trồng cho kết quả tốt.

## 2. THỰC NGHIỆM

### 2.1. Quy trình khảo sát các thông số ghi đo thích hợp

Tiến hành khảo sát bước sóng, thể tích thuốc thử, thời gian tạo màu, pH thích hợp theo quy trình sau: Hút chính xác 5ml dung dịch chuẩn  $\text{NO}_3^-$  10ppm cho vào cốc thủy tinh 50ml, đem cô cạn trên bếp cách thủy, để nguội. Thêm 5ml axit salicylic 5% trong  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , lắc nhẹ cho tan cạn. Dùng 5ml NaOH 2N cho vào cốc trên điều chỉnh pH trong khoảng 13 - 14. Chuyển toàn bộ dung dịch trên vào bình định mức 25ml, định mức tới vạch. Lắc đều và tiến hành đo mật độ quang A của phức màu vàng sau khi ổn định màu ở các bước sóng khác nhau trên máy đo quang Spectro Thermo Scientific - Mỹ.

### 2.2. Xác định khoảng tuyến tính và xây dựng đường chuẩn

Hút chính xác các thể tích dung dịch  $\text{NO}_3^-$  10ppm vào các cốc thủy tinh 50ml để thu được các nồng độ nitrat lần

lượng là 0,2ppm; 0,4ppm; 0,6ppm; 0,8ppm; 1,0ppm; 1,2ppm; 1,4ppm; 1,6ppm; 1,8ppm; 2ppm. Tiến hành tạo màu và ghi đo ở các điều kiện thích hợp đã khảo sát ở mục 2.1. Vẽ đồ thị Abs - C từ đó xác định được khoảng tuyến tính. Tiến hành xây dựng đường chuẩn trong khoảng tuyến tính thu được ở trên.

**2.3. Cách tiến hành xác định độ lặp lại, LOD và LOQ**

Tiến hành đo lặp lại 10 lần dung dịch NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 0,5ppm tiêu chuẩn ở các điều kiện thích hợp đã khảo sát ở mục 2.1, từ các giá trị mật độ quang đo được tính được độ lặp lại, LOD, LOQ.

**2.4. Quy trình phân tích mẫu**

- *Lấy mẫu:* Mẫu phân tích là các mẫu rau của quả: bắp cải, xà lách, su hào, cà rốt, cà chua, dưa hấu, dưa chuột được lấy ngày 12/11/2018 tại các chợ khác nhau theo bảng 1.

- *Xử lý mẫu:* Cân khoảng 500g mẫu, thái nhỏ, trộn đều mẫu. Cân 10,000 ± 0,005g mẫu lần lượt cho các cốc thủy tinh đã được ghi ký hiệu sẵn. Thêm nước đến khoảng 100ml, phá mẫu trong lò vi sóng trong 10 phút. Để nguội, lọc bỏ bã lấy dung dịch và định mức 200ml.

- *Phân tích mẫu:* Hút 10ml dịch lọc mỗi loại, đem cô cạn trên bếp cách thủy và tiến hành tương tự như cách xây dựng đường chuẩn ở mục 2.3.

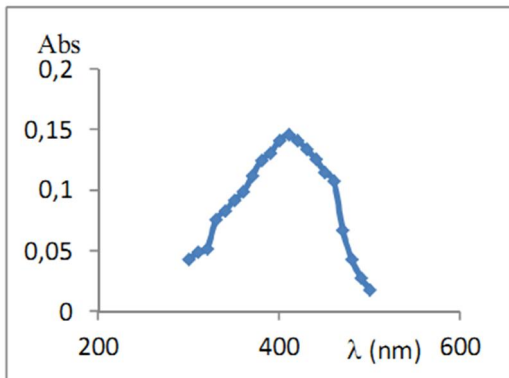
- *Phân tích đối chứng:* Các mẫu phân tích tiếp tục được phân tích bằng phương pháp tiêu chuẩn TCVN 8742 - 2011 [4] để kiểm chứng kết quả.

**3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN**

**3.1. Kết quả khảo sát các thông số ghi đo thích hợp**

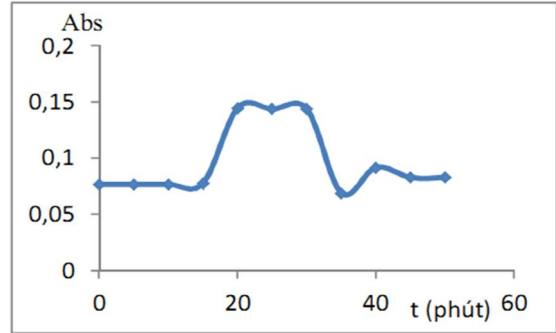
Kết quả khảo sát các điều kiện thích hợp trong phép xác định nitrat bằng phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử axit salicylic:

- + Bước sóng thích hợp là 410nm (hình 1);
- + Thời gian tạo màu thích hợp là t = 20 - 30 phút sau khi tạo màu (hình 2);
- + Thể tích thích hợp của dung dịch axit salicylic 5% là 0,4 - 1ml (hình 3);
- + pH thích hợp là 13-14 (hình 4).



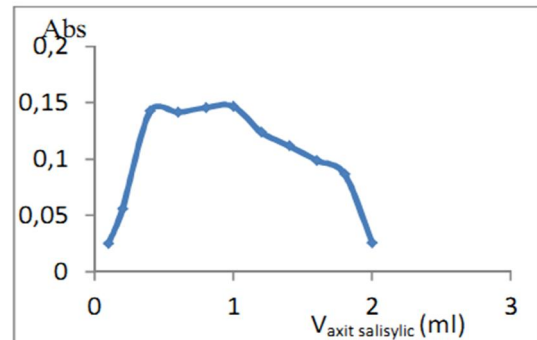
Hình 1. Đồ thị khảo sát bước sóng thích hợp

(Điều kiện ghi đo: [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 0,5mg/l; V<sub>axit salicylic 5%</sub> = 0,5ml; pH = 13 - 14, t = 25 phút)



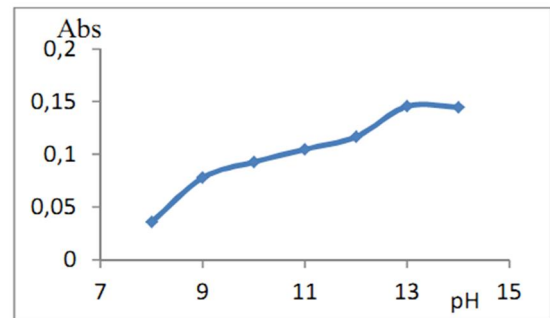
Hình 2. Đồ thị khảo sát thời gian tạo màu thích hợp

(Điều kiện ghi đo: [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 0,5mg/l; V<sub>axit salicylic 5%</sub> = 0,5ml; pH = 13 - 14, λ = 410nm)



Hình 3. Đồ thị khảo sát thể tích dung dịch axit salicylic thích hợp

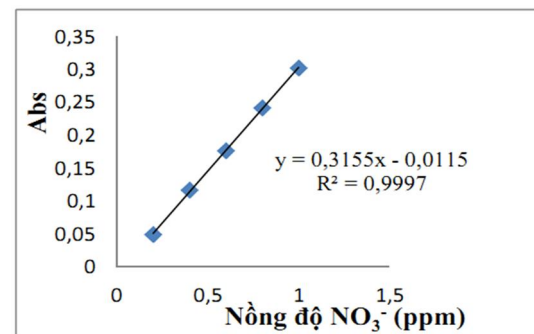
(Điều kiện ghi đo: [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 0,5mg/l; pH = 13 - 14, t = 25 phút, λ = 410nm)



Hình 4. Đồ thị khảo sát pH thích hợp

(Điều kiện ghi đo: [NO<sub>3</sub><sup>-</sup>] = 0,5mg/l; V<sub>axit salicylic 5%</sub> = 0,5ml; t = 25 phút, λ = 410nm)

**3.2. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính, xây dựng đường chuẩn**



Hình 5. Xây dựng đường chuẩn của nitrat

Khoảng nồng độ tuyến tính của phương pháp từ 0,2ppm đến 1,00ppm. Tiến hành xây dựng đường chuẩn trong khoảng tuyến tính này thu được phương trình đường chuẩn là  $y = 0,3155x - 0,0115$  với  $R^2 = 0,9997$  (hình 5).

**3.3. Kết quả khảo sát độ lặp lại, LOD, LOQ**

Phương pháp có độ lặp lại tốt (RSD = 2,87%; n = 10), giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng là LOD = 0,012ppm; LOQ = 0,041ppm.

**3.4. Kết quả phân tích mẫu rau củ quả**

Hàm lượng nitrat tính theo mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/kg mẫu tươi được tính theo công thức:

$$\text{mg NO}_3^-/\text{kg mẫu tươi} = C_x \cdot V \cdot \frac{V_{dm}}{V_{hút}} \cdot \frac{1000}{m}$$

Trong đó:

C<sub>x</sub>: Là nồng độ NO<sub>3</sub><sup>-</sup> tính theo đường chuẩn (ppm)

V: Thể tích dung dịch mẫu sau khi chiết (l);

V<sub>hút</sub>: Thể tích dung dịch trích ra để xác định (l);

V<sub>dm</sub>: thể tích dung dịch định mức (l) ;

m: Khối lượng mẫu tươi (g);

1000: Hệ số qui đổi

Các mẫu thí nghiệm được tiến hành song song: xác định hàm lượng nitrat trong các mẫu thí nghiệm bằng phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử axit salicylic và xác định hàm lượng nitrat trong các mẫu thí nghiệm bằng phương pháp trắc quang theo TCVN 8742 - 2011 nhằm mục đích đánh giá độ đúng của phương pháp. Kết quả phân tích được thể hiện ở bảng 1.

Bảng 1. Kết quả phân tích hàm lượng NO<sub>3</sub><sup>-</sup> trong các mẫu phân tích

Tên mẫu	Mẫu	KHM	Địa điểm mẫu	Hàm lượng (mg/kg) tính theo phương pháp dùng thuốc thử axit salicylic	Hàm lượng (mg/kg) tính theo TCVN 8742 – 2011	Giới hạn cho phép theo QĐ-BYT (mg/kg) [6]
Bắp cải	1	BC 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	127,35	124,12	500
	2	BC 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	78,67	80,61	
	3	BC 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	82,46	82,09	
Xà lách	1	XL 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	82,94	79,75	1500
	2	XL 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	648,53	642,23	
	3	XL 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	174,58	179,11	

Su hào	1	SH 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	72,24	75,58	500
	2	SH 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	45,69	49,33	
	3	SH 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	46,26	45,17	
Cà rốt	1	CR 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	433,52	429,46	250
	2	CR 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	208,65	205,89	
	3	CR 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	415,36	422,08	
Cà chua	1	CCH 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	28,96	27,12	150
	2	CCH 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	87,38	85,59	
	3	CCH 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	90,07	93,34	
Dưa chuột	1	DC 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	76,35	78,71	150
	2	DC 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	52,26	51,58	
	3	DC 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	114,11	109,01	
Dưa hấu	1	DH 1	Chợ Tây Tựu - Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội	45,33	47,18	60
	2	DH 2	Chợ Nhà Xanh - Cầu Giấy, Hà Nội	26,08	25,19	
	3	DH 3	Chợ Dịch Vọng - Dịch Vọng, Cầu Giấy, Hà Nội	21,95	22,72	

Kết quả nghiên cứu cho thấy hàm lượng nitrat trung bình trong các mẫu cà rốt là cao nhất, hàm lượng nitrat trung bình trong dưa hấu là thấp nhất so với các mẫu khác. Kết quả phân tích hàm lượng nitrat trong các mẫu thí nghiệm theo hai phương pháp: phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử axit salicylic và phương pháp trắc quang theo TCVN 8742 - 2011 có độ sai lệch nằm trong giới hạn cho phép, điều này cho thấy phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử axit salicylic có độ chính xác, độ tin cậy cao. Trong các mẫu phân tích chỉ có mẫu cà rốt CR1, CR3 là vượt quá tiêu chuẩn về giới hạn hàm lượng cho phép của nitrat trong rau củ quả theo QĐ-BYT [6].

**4. KẾT LUẬN**

Kết quả nghiên cứu đã khảo sát được các điều kiện thích hợp để phân tích hàm lượng nitrat trong rau củ quả theo phương pháp trắc quang sử dụng thuốc thử axit salicylic: bước sóng hấp thụ cực đại là 410nm, thời gian tạo màu thích hợp là 20 - 30 phút, thể tích thích hợp của dung dịch axit salicylic 5% là 0,4 - 1ml, pH thích hợp là 13 - 14. Phương pháp có độ lặp lại tốt (RSD = 2,87%; n = 10), giới hạn định lượng, giới hạn phát hiện thấp (LOD = 0,012mg/l,

LOQ = 0,041mg/l). Phương pháp được ứng dụng để phân tích hàm lượng nitrat trong một số rau củ quả trên thị trường và đánh giá kết quả phân tích theo tiêu chuẩn.

---

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. TCVN 7814:2007 (EN 12014-2:1997), Xác định hàm lượng nitrat trong rau và sản phẩm rau bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao/trao đổi ion.
- [2]. TCVN 8160-7:2010 (EN 12014-7:1998), Xác định hàm lượng nitrat trong rau và sản phẩm rau bằng phương pháp phân tích dòng liên tục sau khi khử bằng cadimi.
- [3]. TCVN 8742:2011: Cây trồng - Xác định nitrat và nitrit bằng phương pháp so màu.
- [4]. 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.
- [5]. Đặng Trần Trung, Nguyễn Quang Thạch, Đỗ Tấn Dũng, 2018. *Thực trạng dư lượng nitrat (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) trong một số loại rau tại tỉnh Bắc Ninh*. Vietnam J. Agri. Sci. Vol. 16, No.1,1-8.
- [6]. Quyết định số 867/1998/QĐ-BYT của Bộ Y tế về danh mục tiêu chuẩn vệ sinh đối với lương thực phẩm do Bộ trưởng Bộ y tế ban hành.
- [7]. Hidekazu ITO, 2016. *Determination of nitrate ion concentration in fresh vegetable juices using ion-pair ultra performance liquid chromatography (IP-UPLC)*. JARQ 50 (1), 45 - 48.
- [8]. Lastra OC, 2003. *Derivative spectrophotometric determination of nitrate in plant tissue*. J AOAC Int, 86(6), 1101-1105.
- [9]. Takushi Hachiya, Yuki Okamoto, 2017. *Simple Spectroscopic Determination of Nitrate, Nitrite, and Ammonium in Arabidopsis thaliana*. Bio-protocol Vol 7, Iss 10, 1-13.

---

#### AUTHORS INFORMATION

**Nguyen Thi Thu Phuong, Dao Thu Ha, Tran Thi Yen**

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry