

## PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG TRIMETHYLAMINE TRONG THỦY SẢN VÀ SẢN PHẨM THỦY SẢN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ UV-VIS

Nguyễn Thị Diệp Chi, Vũ Trường An, Nguyễn Minh Trí<sup>19</sup>

**Tóm tắt:** Việc đánh giá độ tươi của thủy sản và sản phẩm thủy sản trước nay chỉ bằng phương pháp cảm quan - độ chính xác không cao, hoặc bằng phương pháp HPLC - đắt tiền, khó thực hiện. Hiện nay, việc đánh giá độ tươi ngon của thủy sản và sản phẩm thủy sản thông qua việc phân tích hàm lượng indole, histamine và trimethylamine, là các sản phẩm phụ sinh ra từ thủy sản không tươi sống, được thực hiện bằng phương pháp quang phổ UV - Vis, một phương pháp dễ dàng thực hiện với chi phí thấp. Bài báo là một nghiên cứu về phương pháp phân tích hàm lượng Trimethylamine trong các mẫu thủy sản tươi sống theo một quy trình được chuẩn hóa từ phương pháp của AOAC trên máy quang phổ UV - Vis Spectroquant® Prove 300, thực hiện tại Phòng Hóa đũa lượng, Trung tâm Phân tích và Kiểm nghiệm Hàng hóa Xuất nhập khẩu Viacimex Cần Thơ. Quy trình được thực hiện trên 3 mẫu thủy sản gồm tôm, mực và cá được lấy từ mẫu của khách hàng trung tâm cung cấp, vào tháng 10 năm 2017. Quy trình định lượng trimethylamine có giới hạn phát hiện (LOD) là 0,053 mg/100g và giới hạn định lượng (LOQ) là 0,151 mg/100g. Đường chuẩn có sự tương quan tuyến tính rất rõ ( $R = 0,9996$ ). Phương pháp có độ lặp lại ( $RSD < 7,3\%$ ), độ tái lập ( $RSD < 11\%$ ) và độ thu hồi trên từng mẫu nằm trong khoảng 80 - 110%. Tất cả thông số được khảo sát đều thỏa mãn được yêu cầu của tiêu chuẩn AOAC 2016 phụ lục F, trang 9. Kết quả khảo sát các mẫu cho thấy các chỉ tiêu về hàm lượng trimethylamine thấp hơn so với giới hạn cho phép là 15mg TMA-N/100g theo Cơ quan quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA).

**Từ khóa:** Trimethylamine, Thủy sản, Sản phẩm thủy sản, Quang phổ UV-Vis.

**Abstract:** The assessment of the freshness of fish and fishery products is only carried by means of sensory which is not completely exact, or by the method of HPLC which is expensive, difficult to implement. Currently, the assessment of the freshness of fish and fishery products through the analysis of indole, histamine and trimethylamine content, which are by-products of the non-freshness, is performed by UV-Vis spectroscopy method, an easy-to-perform method with very economical cost. The article is a study of the analysis of Trimethylamine content in several fresh samples of fish by a procedure standardized from the AOAC method with the UV-Vis Spectroquant® Prove 300, carried out at the Biosafety Office, Center for Analysis and Testing of Import and Export of Viacimex Can Tho. The process was carried out on 3 samples

<sup>19</sup> Bộ môn Hóa học, Khoa Khoa học Tự nhiên, Trường Đại học Cần Thơ

of fish, including shrimp, fish and squid, which were randomly collected in customers' samples in October 2017. The detection limit (LOD) of the process was 0,053 mg/100g and the quantitative limit (LOQ) was 0,151 mg/100g. Benchmarking has a very linear correlation ( $R = 0,9996$ ). All parameters surveyed satisfy the requirements of AOAC 2016 standard appendix F, page 9. The results of the survey showed that trimethylamine content in fish is lower than the permitted limit of 15mg TMA-N/100g according to the Food and Drug Administration (FDA).

**Keywords:** Trimethylamine, Fish, Fishery products, UV-Vis spectroscopy.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, sản xuất, chế biến và xuất khẩu thủy sản là một ngành kinh tế quan trọng, đóng góp trực tiếp vào việc tăng thu ngân sách, công nghiệp hóa đất nước. Do đó, việc kiểm tra chất lượng thủy sản xuất nhập khẩu càng đóng vai trò quan trọng, để có thể đáp ứng được yêu cầu nghiêm ngặt của các thị trường lớn trên thế giới như: Nhật Bản, Hoa Kỳ, cộng đồng châu Âu,... cũng như đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm cho người tiêu dùng trong nước.

Độ tươi là yếu tố rất quan trọng trong việc đánh giá chất lượng thủy hải sản tươi sống cũng như đóng hộp. Thông thường, đánh giá chất lượng cá được dựa trên kiểm tra cảm quan - nhận thức của con người thông qua mùi, hương vị, sự tiếp xúc. Tuy nhiên, để có thể đánh giá một cách chính xác, khoa học thì các chỉ tiêu chính được đánh giá bao gồm Histamine, Indole và Trimethylamine ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$  thực phẩm). Đây là những sản phẩm phụ sinh ra trong quá trình bảo quản, do nguyên liệu đầu vào không được tươi mới hoàn toàn. Bài báo trình bày tóm tắt về cách đánh giá chỉ tiêu Trimethylamine trong thủy sản tươi sống và sản phẩm đóng hộp bằng phương pháp quang phổ UV-Vis.

Trimethylamine là sản phẩm phụ của quá trình phân hủy acid amin tryptophan gây ra mùi hôi thối. Nó cũng là thành phần liên quan đến độ tươi của thủy sản. Để xác định hàm lượng trimethylamine trong thủy sản và sản phẩm thủy sản, phương pháp đo quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis (theo AOAC 948.17:2005) được sử dụng. Hàm lượng trimethylamine được phép có trong cá là  $<15\text{mg TMA-N}/100\text{g}$  theo Cơ quan quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (FDA).

## II. THỰC NGHIỆM

### 1. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:

#### 1.1. Đối tượng nghiên cứu:

Thực hiện trên 3 mẫu thủy sản tươi sống gồm cá, tôm và mực được lấy ngẫu nhiên từ mẫu của khách hàng của trung tâm.

#### 1.2. Hóa chất và thiết bị thí nghiệm:

Tên các hóa chất và thiết bị sử dụng trong nghiên cứu được trình bày trong Bảng 1.

**Bảng 1. Thiết bị thí nghiệm và hóa chất**

Thiết bị	Hóa chất
Máy quang phổ UV - VisSpectroquant® Prove 300	Trimethylamine (40% solution in water)
Bình định mức 1000 mL, 100 mL	Trichloroacetic acid
Cân điện tử 4 số lẻ	Picric acid
Micropipet 1000 $\mu$ L, 5 mL, 10 mL	$K_2CO_3$
Dụng cụ và thiết bị cần thiết khác	Formaldehyde
	Nước cất

**Pha dung dịch:**

- Dung dịch chuẩn gốc TMA-N 1000 mg N/L: Dùng micropipet hút chính xác khoảng 1,197 ml dung dịch Trimethylamine (40% solution in water) cho vào bình định mức 100 mL, thêm nước cất và định mức tới vạch.

- Dung dịch chuẩn làm việc TMA-N 10 mg N/L: Dùng micropipet hút chính xác 1 mL dung dịch TMA-N 1000 mg N/L vào bình định mức 100 mL, thêm nước cất và định mức tới vạch.

- Dung dịch chuẩn gốc picric acid: hòa tan 2 g picric acid trong 100 mL toluen đã loại nước.

- Dung dịch chuẩn làm việc picric acid: Hòa loãng 1 mL dung dịch gốc picric acid trong 100 mL toluen đã loại nước.

- Dung dịch trichloroacetic acid 7,5%: Cân chính xác 7,5 g trichloroacetic acid cho vào bình định mức 100 mL.

- Dung dịch Potassium carbonate: Hòa tan 100 g  $K_2CO_3$  trong 100 mL nước.

- Dung dịch Formaldehyde. Hòa loãng 25 mL đến 50 mL với nước.

**1.3. Phương pháp nghiên cứu**

1.3.1. Dựa theo Quy trình phân tích theo AOAC 948.17:2005, tiến hành tối ưu hóa quy trình tách chiết và đánh giá hàm lượng TMA-N bằng phương pháp quang phổ UV-Vis phù hợp với điều kiện và trang thiết bị ở phòng thí nghiệm (Phòng Hóa đa lượng, Trung tâm Phân tích và Kiểm nghiệm Hàng hóa Xuất Nhập khẩu Viacimex Cần Thơ).

**\* Chuẩn bị mẫu:**

- Đối với mẫu cá: Dùng dao phi lê cá, bỏ phần da, lấy phần thịt cá (làm sạch vây và xương cá nếu còn vương trên thịt). Lấy ngẫu nhiên mỗi miếng phi lê trong mẫu đại diện cắt nhỏ lấy 1 phần thịt, cho vào máy xay mẫu, xay nhuyễn và đồng nhất mẫu.

- Đối với mẫu tôm: Đối với tôm nguyên liệu, phải bỏ đầu, vỏ và gạch, lấy phần thịt sạch. Đối với tôm thành phẩm, lấy phần thịt đã làm sạch các phụ phẩm. Chọn phần mẫu thịt tôm đại diện cắt nhỏ, xay nhuyễn và đồng nhất bằng máy xay mẫu.

- Đối với mẫu mực: Dùng dao bén cắt tua mực phía dưới mắt một chút. Bỏ mắt và ruột. Bỏ răng mực nằm giữa chùm tua. Dùng ngón tay đưa vào thân mực để lấy nang mực, trông như một miếng plastic mỏng và dài. Cho thịt vào máy xay mẫu, xay nhuyễn và đồng nhất mẫu.

Lấy ít nhất 250 g mẫu đại diện, đặt mẫu vào túi nhựa và hàn kín miệng, bảo quản mẫu.

\* Chuẩn bị mẫu thử: Cân chính xác 10 g mẫu đã được đồng nhất, thêm 20 mL trichloroacetic acid 7,5% và vortex đều. Dem mẫu ly tâm 2500 - 3000 rpm trong 4 phút để thu được dịch chiết trong và sạch.

### 1.3.2. Khảo sát quy trình thích hợp trên mẫu chuẩn

Chuẩn bị 3 ống nghiệm ký hiệu QT1, QT2, QT3 tương ứng với 3 quy trình sau:

**Bảng 2.** Khảo sát độ hấp thu của mẫu chuẩn theo quy trình 1

Quy trình 1	
Thể tích hút từ chuẩn TMA-N 10 ppm (mL)	1
Nước cất (mL)	4
Formaldehyde (mL)	1
Toluen (mL)	10
Vortex đều	
Hút 7 - 9 mL lớp dung dịch trên vào ống ly tâm 15 có chứa sẵn 0,1g Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
Vortex đều, ly tâm	
Hút 5 mL dung dịch + 5 mL dung dịch picric acid làm việc	
Tiến hành đo độ hấp thu của dãy dung dịch trên ở bước sóng 410 nm	

**Bảng 3.** Khảo sát độ hấp thu của mẫu chuẩn theo quy trình 2

Quy trình 2	
Thể tích hút từ chuẩn TMA-N 10 ppm (mL)	1
Nước cất (mL)	4
Formaldehyde (mL)	3
Toluen (mL)	10
Vortex đều	
Hút 7 - 9 mL lớp dung dịch trên vào ống ly tâm 15 có chứa sẵn 0,1g Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
Vortex đều, ly tâm	
Hút 5 mL dung dịch + 5 mL dung dịch picric acid làm việc	
Tiến hành đo độ hấp thu của dãy dung dịch trên ở bước sóng 410 nm	

**Bảng 4.** Khảo sát độ hấp thu của mẫu chuẩn theo quy trình 3

Quy trình 3	
Thể tích hút từ chuẩn TMA-N 10 ppm (mL)	1
Nước cất (mL)	4
Formaldehyde (mL)	1
Potassium carbonate (mL)	3
Toluen (mL)	10
Vortex đều	
Hút 7 - 9 mL lớp dung dịch trên vào ống ly tâm 15 có chứa sẵn 0,1g Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	
Vortex đều, ly tâm	
Hút 5 mL dung dịch + 5 mL dung dịch picric acid làm việc	
Tiến hành đo độ hấp thu của dãy dung dịch trên ở bước sóng 410 nm	

1.3.3. Quy trình phân tích hàm lượng TMA-N trong thủy sản và sản phẩm thủy sản bằng phương pháp quang phổ UV-VIS được khảo sát trên 3 loại mẫu (cá, tôm, mực tươi) với các chỉ tiêu: khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ lặp lại, độ thu hồi, độ tái lập.

1.3.4. Tiến hành phân tích hàm lượng TMA-N có trong 3 loại mẫu trên theo quy trình đã khảo sát.

## 2. Kết quả và kết luận

### 2.1. Khảo sát quy trình tối ưu:

**Bảng 5.** Kết quả độ hấp thu từ 3 quy trình

	QT1	QT2	QT3
Độ hấp thu (abs)	0,000	0,089	0,117

Kết quả cho thấy, độ hấp thu của quy trình 3 tối ưu nhất so với 2 quy trình còn lại. Do đó, nghiên cứu chọn quy trình 3 làm quy trình định lượng hàm lượng trimethylamine trong thủy sản.

2.2. Kết quả khảo sát quy trình định lượng trimethylamine với các chỉ tiêu đã nêu như sau:

2.2.1. Khoảng tuyến tính: Đường chuẩn của dãy chuẩn TMA-N trong khoảng nồng độ từ 1 - 3 ppm có sự tương quan tuyến tính rõ rệt với phương trình hồi quy  $y = 0,1167x - 0,0038$  ( $R = 0,9996$ ).

2.2.2. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp có giá trị lần lượt là:  $LOD = 0,053 \text{ mg/100 g}$  và  $LOQ = 0,151 \text{ mg/100 g}$ .

2.2.3. *Độ lặp lại*: Thí nghiệm được thực hiện trên 3 loại thủy sản, mỗi loại 6 mẫu. Độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) trong khảo sát độ lặp lại của phương pháp:

Mẫu	Hàm lượng trung bình ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	%RSD
Tôm	0,73	$6,42 \pm 0,05$
Mực	1,01	$5,27 \pm 0,06$
Cá ngừ	2,05	$3,43 \pm 0,07$

Kết quả đạt yêu cầu của tiêu chuẩn AOAC 2016, phụ lục F, trang 9. Phương pháp cho độ lặp lại tốt.

2.2.4. *Độ thu hồi*: Kết quả độ thu hồi (R%) của phương pháp trên các mẫu thủy sản tươi sống được thêm chuẩn TMA-N hàm lượng 1 mg/100g:

Mẫu	Tôm	Cá ngừ	Mực
R%	$89,6 \pm 2,15$	$90,1 \pm 2,67$	$95,0 \pm 1,38$

Kết quả này đạt yêu cầu của tiêu chuẩn AOAC 2016, phụ lục F, trang 9. Phương pháp phân tích cho độ thu hồi tốt.

2.2.5. *Độ tái lập*: Độ lệch chuẩn tương đối tái lập (RSD tái lập %) của phương pháp:

Mẫu	Tôm	Cá ngừ	Mực
%RSD	$8,44 \pm 0,07$	$4,07 \pm 0,09$	$5,99 \pm 0,07$

Kết quả này đạt được yêu cầu của tiêu chuẩn AOAC 2016, phụ lục F, trang 9 là  $\leq 32\%$ . Phương pháp cho độ tái lập tốt, cho thấy phương pháp không bị ảnh hưởng nhiều khi thay đổi các điều kiện thực hiện: thời gian, nhiệt độ,...

2.3. *Kết quả định lượng trimethylamine trên các nền mẫu thủy sản* lần lượt được trình bày trong các Bảng 2, 3, 4 dưới đây:

**Bảng 2.** Kết quả định lượng trimethylamine trên mẫu cá ngừ

Mẫu	Thể tích lấy	Độ hấp thu (A)	Nồng độ (mg/100g)
1		0,073	1,944
2	1 mL	0,078	2,077
3		0,079	2,104
			$\bar{x} = 2,042$

Độ lệch chuẩn SD = 0,086

Độ lệch chuẩn tương đối RSD = 4,195%

**Bảng 3.** Kết quả định lượng trimethylamine trên mẫu mực

Mẫu	Thể tích lấy	Độ hấp thu (A)	Nồng độ (mg/100g)
1		0,045	1,198
2	1 mL	0,041	1,092
3		0,046	1,225
			$\bar{x} = 1,172$

Độ lệch chuẩn SD = 0,070

Độ lệch chuẩn tương đối RSD = 6,000%

**Bảng 4.** Kết quả định lượng trimethylamine trên mẫu tôm

Mẫu	Thể tích lấy	Độ hấp thu (A)	Nồng độ (mg/100g)
1		0,027	0,719
2	1 mL	0,028	0,746
3		0,028	0,746
			$\bar{x} = 0,737$

Độ lệch chuẩn SD = 0,016

Độ lệch chuẩn tương đối RSD = 2,115%

**Nhận xét chung:** Có thể sử dụng phương pháp quang phổ tử ngoại khả kiến để định lượng Trimethylamine - Nitrogen trong mẫu thủy sản và nồng độ trimethylamine trong các mẫu thủy sản có giá trị là: cá (2,042), mực (1,172), tôm (0,737) (mg/100g).

### 3. Kết luận:

Quy trình phân tích hàm lượng Trimethylamine - Nitrogen trong thủy sản và sản phẩm thủy sản bằng máy quang phổ UV - Vis Spectroquant® Prove 300 có kết quả thẩm định như sau:

Tính tuyến tính	$y = 0,1167x - 0,0038$ (R = 0,9996)
Giới hạn phát hiện	0,053 mg/100g
Giới hạn định lượng	0,151 mg/100g
Độ thu hồi	91,57% ± 2,07
Độ lặp lại	5,04% ± 0,06
Độ tái lập	6,17% ± 0,08

Tất cả thông số được khảo sát đều thỏa mãn được yêu cầu của tiêu chuẩn AOAC 2016, phụ lục F, trang 9.

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng trimethylamine trong 3 loại mẫu thủy sản đã khảo sát thấp so với giới hạn cho phép là 15 (mg/100 g).

Với những kết quả thu được, nghiên cứu đã chứng minh phương pháp quang phổ UV-Vis có thể xem như một giải pháp thay thế tạm thời phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao trong việc định lượng trimethylamine trong thủy sản và sản phẩm thủy sản. Đây là một phương pháp đơn giản, dễ thực hiện ở nhiều phòng thí nghiệm mà lại cho kết quả chính xác, đạt yêu cầu với thời gian rút ngắn.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Nguyễn Thị Diệp Chi. Bài giảng Phân tích kỹ thuật. Khoa Khoa học Tự nhiên. Trường Đại học Cần Thơ, 2008.
- [2]. Lâm Phước Điền. Giáo trình Phân tích trắc quang. Khoa Khoa học Tự nhiên. Trường Đại học Cần Thơ, 2007.
- [3]. Nguyễn Minh Trí. Đánh giá quy trình xác định hàm lượng Trimethylamine - Nitrogen trong thủy sản và sản phẩm thủy sản bằng phương pháp quang phổ tử ngoại khả kiến. Luận văn tốt nghiệp đại học - chuyên ngành Hóa học. Đại học Cần Thơ, 2017.
- [4]. AOAC Official Method 971.14. Trimethylamine nitrogen in seafood. In "AOAC Official Method of Analysis of AOAC International", volume II, chapter 35. 34-35, 2002
- [5]. Dyer W.J. Amine in fish muscle. I. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate acid. Journal of the Fish Board of Canada, 6 351- 358, 1945.
- [6]. Huss, H.H. Quality and quality changes of fresh fish. FAO Fisheries Technical Paper 348, FAO, 1994.