

# XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG FORMALDEHYD TRONG ĐẬU PHỤ BẰNG PHƯƠNG PHÁP UV-VIS

**Đỗ Thị Hằng<sup>1\*</sup>, Võ Thị Hương<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược Buon Ma Thuot

<sup>2</sup>Trung tâm kiểm nghiệm thuốc, thực phẩm, mỹ phẩm Gia Lai

\*Email: [dthang@bmu.edu.vn](mailto:dthang@bmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 17/6/2024; Ngày nhận bài sửa: 24/8/2024; Ngày chấp nhận đăng: 16/10/2024

## TÓM TẮT

Đậu phụ là một thực phẩm có lợi cho sức khỏe vì chứa hàm lượng protein cao với giá trị dinh dưỡng tương đương protein có nguồn gốc động vật. Formaldehyd có chức năng như một chất kháng khuẩn, có thể làm chậm hoạt động của vi khuẩn trong thực phẩm chứa nhiều protein và giúp cho thực phẩm bảo quản được lâu, nhưng khi vào cơ thể con người formaldehyd có thể gây đột biến và là yếu tố thúc đẩy sự hình thành và phát triển của tế bào ung thư. Trong khi đó, Bộ Y tế vẫn chưa ban hành quy trình chuẩn để định lượng formaldehyd trong đậu phụ. Trước thực trạng đó, nghiên cứu được tiến hành nhằm xây dựng quy trình định lượng formaldehyd trong đậu phụ bằng phương pháp UV-Vis nhằm đánh giá formaldehyd trong đậu phụ lưu hành tại phường Quy Nhơn Nam – Gia Lai. Nghiên cứu này được thực hiện vào tháng 7 năm 2023. Trong quá trình phân tích định lượng, các mẫu được đo độ hấp thụ bằng máy quang phổ UV-Vis ở bước sóng 572,0 nm. Kết quả ban đầu các mẫu đều dương tính với hàm lượng 0,88 ppm; 0,79 ppm; 0,83 ppm; 0,94 ppm; 1,06 ppm có nghi ngờ quy trình tạo dương tính giả, nên chúng tôi tiến hành thêm với 7 mẫu có hàm lượng 0,57 ppm; 0,46 ppm; 0,90 ppm; 1,13 ppm; 0,16 ppm; 0,00 ppm; 1,93ppm có 1 mẫu giấy lau trong quá trình làm việc âm tính có thể thấy quy trình không tạo dương tính giả mà khả năng trong đậu tương có formaldehyd nội sinh và chúng tôi tiến hành tiếp tục trên các loại hạt thì tất cả đều dương tính với hàm lượng formaldehyde có độ dao động từ 0,08 ppm - 2,64 ppm.

*Từ khóa:* Đậu phụ, định lượng formaldehyd, UV-Vis, Quy Nhơn Nam, Gia Lai.

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đậu phụ là thực phẩm quen thuộc trong khẩu phần ăn hàng ngày của người Việt Nam. Thực phẩm này cung cấp nguồn protein thực vật đóng vai trò quan trọng, các lipid và một số khoáng chất cần thiết cho cơ thể như Ca, Cu, Se, P. Với hàm lượng protein cao và giá trị sinh học tương đương protein động vật, đậu phụ được đánh giá là thực phẩm có lợi cho sức khỏe [1]. Ngoài ra, đậu phụ còn hỗ trợ phòng ngừa béo phì, hạn chế nguy cơ mắc bệnh đái tháo đường và mang lại lợi ích tích cực cho tim mạch [2].

Formaldehyd có chức năng như một chất kháng khuẩn, có thể làm chậm hoạt động của vi khuẩn trong thực phẩm chứa nhiều protein do formaldehyd phản ứng với protein trong thực phẩm và làm cho thực phẩm bền, nhưng khi vào cơ thể con người, formaldehyd được ghi nhận là tác nhân có nguy cơ gây đột biến gen đồng thời liên quan đến sự khởi phát và tiến triển các tế bào ung thư trong cơ thể [3].

Nhằm kéo dài thời gian bảo quản của đậu phụ, một số cơ sở sản xuất đã sử dụng formaldehyd với mục đích làm chậm quá trình hư hỏng. Theo quy định tại Thông tư số 24/2019/TT-BYT do Bộ Y tế ban hành ngày 30/8/2019 về quản lý và sử dụng phụ gia thực phẩm, formaldehyd không được phép sử dụng làm phụ gia trong thực phẩm [4].

Hiện nay, việc xác định hàm lượng formaldehyd trong thực phẩm được thực hiện bằng nhiều kỹ thuật phân tích khác nhau bao gồm chuẩn độ, quang phổ tử ngoại – khả kiến và sắc ký lỏng hiệu năng cao. Do đặc tính nền mẫu của thực phẩm thường phức tạp và chứa nhiều thành phần khác nhau, mỗi đối tượng phân tích cần được thiết kế một quy trình xử lý và chiết tách riêng biệt nhằm đảm bảo độ tin cậy của kết quả. Trong các kỹ thuật phân tích, phương pháp UV-Vis được đánh giá là dễ triển khai, thao tác đơn giản và chi phí tương đối thấp, phù hợp cho việc phân tích các chất có mặt ở hàm lượng thấp. Nhờ những ưu điểm này, UV-Vis có thể được áp dụng tại nhiều cơ sở kiểm nghiệm thực phẩm. Tuy

nhiên, khi áp dụng cho các mẫu có nhiều cấu tử, phương pháp này thường gặp hạn chế do hiện tượng chồng lấn phổ hấp thụ, gây khó khăn cho việc định lượng chính xác. Bên cạnh đó, sự hiện diện của nhiều thành phần trong nền mẫu cũng có thể gây nhiễu, làm ảnh hưởng đến độ chính xác và độ lặp lại của kết quả phân tích [5]. Tạp chất có thể tạo ra các dải hấp thụ phụ hoặc làm thay đổi dải hấp thụ của các cấu tử chính [6]. Hạn chế về dải nồng độ có thể không hiệu quả khi nồng độ của các cấu tử nằm ngoài dải nồng độ mà thiết bị có thể đo lường chính xác. Cần phải pha loãng mẫu để nằm trong phạm vi tuyến tính của thiết bị [7]. Yêu cầu điều kiện phân tích phù hợp. Đối với một số hợp chất, chỉ có thể quan sát được sự hấp thụ ở những điều kiện nhất định, chẳng hạn như pH hoặc môi trường dung dịch cụ thể. Do đó để thực hiện cần yêu cầu tối ưu hóa điều kiện phân tích [8].

Trên cơ sở đó, nhóm nghiên cứu tiến hành xây dựng và thẩm định quy trình định lượng formaldehyd trong đậu phụ bằng phương pháp UV-Vis, nhằm đánh giá mức độ hiện diện của chất này và đưa ra các khuyến nghị phù hợp cho người tiêu dùng trên địa bàn trong quá trình sử dụng sản phẩm.

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Hoá chất, chất chuẩn, thiết bị

Các thiết bị dụng cụ dùng trong nghiên cứu bao gồm: Cân phân tích CP 2400 Sartorius, Nhật Bản. Máy quang phổ UV-Vis UH5300, Nhật Bản. Máy lắc siêu âm Bandelin SONOREX DIGITEC, Trung Quốc. Máy ly tâm Hermler Z206A, Trung Quốc.

Formaldehyd (37-40)% số lô: 1903382 của Fisher, Bỉ.

Acid chromotropic số lô: 320.3 của công ty Zhanyun, Trung Quốc.

Acid chromotropic 0,18%: cân chính xác khoảng 0,18 g acid chromotropic cho vào ống ly tâm 45 mL, thêm 5 mL nước cất lắc siêu âm đến khi acid chromotropic tan hết, ly tâm 5000 vòng/10 phút. Lấy dịch trong cho vào bình định mức 100 mL, thêm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (đậm đặc) vừa đủ.

Nước cất, formaldehyd (37-40%), acid chromotropic, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (đđ) đạt tinh khiết phân tích theo quy định của Dược điển Việt Nam V.

### 2.2. Đối tượng nghiên cứu

Đậu phụ gồm 10 mẫu được mua tại chợ và siêu thị trên địa bàn phường Quy Nhơn Nam (Chợ Đầm, Chợ khu 6, Chợ Ghềnh Ráng, siêu thị Go, Coop mart).

### 2.3. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.3.1. Khảo sát bước sóng hấp thụ cực đại

Hút 0,2 mL dung dịch chuẩn gốc formaldehyd 100 ppm vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, định mức đến vạch bằng nước cất, lắc đều. Quét phổ UV-Vis của dung dịch vừa pha trong khoảng bước sóng 400 nm – 800 nm. Chọn bước sóng hấp thụ cực đại để định lượng.

#### 2.3.2. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

- Khảo sát thời gian lắc siêu âm: 5 phút, 10 phút, 15 phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm.

Cân 10 g đậu phụ xay nhỏ vào ống ly tâm 45 mL, thêm 0,2 mL formaldehyd 100 ppm, thêm 15 mL nước cất, trộn, lắc siêu âm 5, 10, 15 phút, ly tâm lấy dịch trong, cho vào bình định mức 25 mL, thêm nước cất vừa đủ, lọc. Hút chính xác 1 mL dịch lọc cho vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, bổ sung nước cất đến vạch và lắc đều, đo quang.

Tiến hành với dung dịch thử thêm chuẩn formaldehyd. Để tìm ra thời gian lắc siêu âm tối ưu.

- Khảo sát dung môi chiết: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, 50%, HCl 10%, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 10%, 50%.

Cân 10 g đậu phụ xay nhỏ vào ống ly tâm 45 mL, thêm 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, 50%, HCl 10%, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 10%, 50% trộn, lắc siêu âm 5 phút, ly tâm lấy dịch trong cho vào bình định mức 25 mL thêm cùng dung dịch pha mẫu vừa đủ, lọc. Hút chính xác 1 mL dịch lọc cho vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, bổ sung nước cất đến vạch và lắc đều.

Tiến hành với dung dịch thử có chứa formaldehyd. Để tìm ra dung môi chiết tối ưu.

### 2.3.3. Quy trình định lượng

Chuẩn bị các mẫu dung dịch gồm:

**Mẫu trắng:** hút 10 mL acid chromotropic 0,18% vào bình định mức 20 mL, bổ sung nước cất đến vạch và lắc đều.

**Dung dịch chuẩn:** hút chính xác 0,2 mL dung dịch chuẩn gốc formaldehyd 100 ppm vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, bổ sung nước cất đến vạch và lắc đều.

**Dung dịch thử:** cân 5 g đậu phụ xay nhỏ vào ống ly tâm 45 mL, thêm 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, trộn, lắc siêu âm 5 phút, ly tâm lấy dịch trong, cho vào bình định mức 25 mL thêm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% vừa đủ, lọc. Hút chính xác 1 mL dịch lọc cho vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, bổ sung nước cất đến vạch và lắc đều.

**Dung dịch thử thêm chuẩn:** cân 5 g đậu phụ xay nhỏ vào ống ly tâm 45 mL, thêm 0,2 mL formaldehyd 100 ppm, thêm 15 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, trộn, lắc siêu âm 5 phút, ly tâm lấy dịch trong, cho vào bình định mức 25 mL thêm H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% vừa đủ, lọc. Hút chính xác 1 mL dịch lọc cho vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, bổ sung nước cất đến vạch và lắc đều.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử tại bước sóng hấp thụ cực đại với mẫu trắng là dung dịch blank. Dựa vào phương trình hồi quy và độ hấp thụ của formaldehyd đo được trong mẫu thử, ta tính được nồng độ formaldehyd trong mẫu thử.

Hàm lượng formaldehyd được tính theo công thức:

$$H (\text{ppm}) = \frac{A_t - b}{a} \quad (1)$$

Trong đó:

H: nồng độ formaldehyd trong dung dịch thử (ppm);

A<sub>t</sub>: độ hấp thụ của mẫu thử;

a: độ dốc trong phương trình tuyến tính;

b: hệ số chặn trong phương trình tuyến tính.

### 2.3.4. Thẩm định phương pháp định lượng

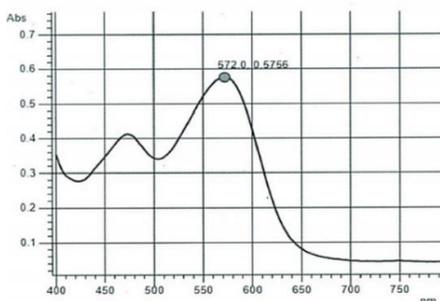
Thẩm định phương pháp định lượng theo quy định của ICH [9] và hướng dẫn thẩm định phương pháp thành phần đa lượng [10] gồm các chỉ tiêu sau: tính tương thích hệ thống, độ đặc hiệu, tính tuyến tính, độ chính xác, độ đúng, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Xác định bước sóng hấp thụ cực đại

Bước sóng hấp thụ cực đại ( $\lambda_{\text{max}}$ ) đóng vai trò quan trọng vì đặc trưng cho từng hợp chất, giúp cung cấp thông tin về cấu trúc điện tử của chất phân tích, đảm bảo độ nhạy cao nhất và giảm thiểu độ lệch so với định luật Lambert-Beer.

Tiến hành quét phổ UV – Vis để tìm bước sóng cực đại thu được kết quả như Hình 1.



Hình 1. Hình ảnh cực đại hấp thụ của phức tím

Phức tím sản phẩm tạo thành giữa formaldehyd và acid chromotropic trong môi trường acid có cực đại hấp thụ tại bước sóng 572,0 nm, do đó bước sóng này được lựa chọn cho thí nghiệm tiếp theo.

Cụ thể, cực đại hấp thụ của phức tím được ghi nhận tại 580 nm trong nghiên cứu của Fernandez và cộng sự [11] và tại 571,5 nm trong nghiên cứu của Seniwati và cộng sự [12]. Sự sai khác nhỏ về bước sóng cực đại hấp thụ giữa các nghiên cứu có thể do sự khác biệt trong quy trình xử lý mẫu, điều kiện phản ứng và môi trường pH của hệ phản ứng.

### 3.2. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

Tiến hành với thời gian lắc siêu âm trong 5 phút, 10 phút, 15 phút ở nhiệt độ phòng thí nghiệm để tìm ra được thời gian chiết tối ưu nhất. Kết quả được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát thời gian siêu âm

Thời gian (phút)	A (Độ hấp thụ)	RSD %
5	0,6175	0,09
10	0,4877	0,04
15	0,4369	0,01

Kết quả nghiên cứu cho thấy thời gian lắc siêu âm 5 phút là thời gian thích hợp để chiết formaldehyd trong đậu phụ. Formaldehyd là một chất rất dễ bay hơi, nên lắc siêu âm càng lâu, nhiệt độ nước trong bể siêu âm tăng làm giảm lượng chất cần phân tích.

Tiến hành khảo sát dung môi chiết: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, 50%, HCl 10%, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 10%, 50%. Kết quả được trình bày ở Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát dung môi chiết

Dung môi chiết	A (Độ hấp thụ)	RSD %
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 10 %	0,6172	0,04
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 50 %	0,6139	0,06
HCl 10 %	0,3246	0,09
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 10 %	0,3154	0,14
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 50 %	0,4268	0,03

Kết quả nghiên cứu cho thấy dung môi chiết H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10% là dung môi thích hợp để chiết formaldehyd trong đậu phụ. Đậu phụ là protein thực vật gốc amin có môi trường kiềm, mà điều kiện tạo phức tím là môi trường acid, nên chọn dung môi acid để triển khai mẫu.

### 3.3. Thẩm định quy trình

#### 3.3.1. Tính tương thích hệ thống

Tiến hành đo lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn chứa formaldehyd nồng độ 1 ppm. Đo độ hấp thụ quang tại bước sóng 572,0 nm. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát tính tương thích hệ thống

Dung dịch	1	2	3	4	5	6
Độ hấp thụ (A)	0,5454	0,5455	0,5458	0,5458	0,5463	0,5465
A <sub>tb</sub> ± SD	0,5459 ± 0,0004					
RSD (%)	0,08					

Kết quả cho thấy RSD = 0,08 < 2%. như vậy, máy quang phổ UV-Vis sử dụng là phù hợp để phân tích formaldehyd trong đậu phụ.

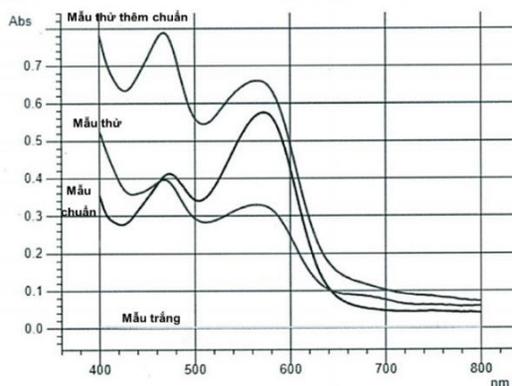
#### 3.3.2. Độ đặc hiệu

Để kết quả xác định hàm lượng formaldehyd trong các mẫu đậu phụ là chính xác, tránh ảnh hưởng của các thành phần khác có trong mẫu cần đánh giá xem quy trình có độ đặc hiệu đạt yêu cầu hay không.

Tiến hành trên các mẫu gồm: mẫu trắng là nước cất, mẫu thử, mẫu chuẩn và mẫu thử thêm chuẩn được chuẩn bị như quy trình đề nghị.

Bảng 4. Kết quả độ đặc hiệu

STT	Mẫu	Độ hấp thụ (A)
1	Mẫu trắng	0,000
2	Mẫu chuẩn	0,5713
3	Mẫu thử	0,3154
4	Mẫu thử thêm chuẩn	0,6539



Hình 2. Hình ảnh độ hấp thụ các mẫu

Nhận xét: mẫu trắng không có cực đại hấp thụ tại bước sóng 572,0 nm. Mẫu chuẩn, mẫu thử và mẫu thử thêm chuẩn cho cực đại hấp thụ tại cùng bước sóng 572,0 nm. Mẫu thử thêm chuẩn có giá trị độ hấp thụ tại bước sóng hấp thụ cực đại cao hơn mẫu thử. Quy trình có độ đặc hiệu đạt yêu cầu.

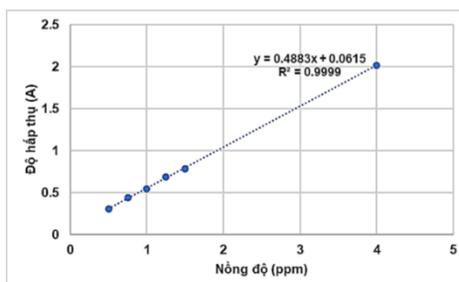
### 3.3.3. Tính tuyến tính

Pha dung dịch gốc formaldehyd 100 ppm. Tiến hành pha các dung dịch chuẩn formaldehyd như sau: hút chính xác 0,1 mL, 0,15 mL, 0,2 mL, 0,25 mL, 0,3 mL, 0,8 mL dung dịch gốc formaldehyd 100 ppm vào bình định mức 20 mL, thêm 10 mL acid chromotropic 0,18%, bổ sung nước cất vừa đủ 20 mL, để được các dung dịch chuẩn có nồng độ 0,5 ppm, 0,75 ppm, 1 ppm, 1,25 ppm, 1,5 ppm, 4 ppm.

Tiến hành đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn tại bước sóng 572,0 nm với mẫu trắng là dung dịch blank. Ghi nhận giá trị độ hấp thụ và xây dựng đường tuyến tính giữa độ hấp thụ và nồng độ formaldehyd trong dung dịch.

Bảng 5. Kết quả độ hấp thụ (A) và nồng độ của dãy dung dịch chuẩn formaldehyd (ppm)

STT	Nồng độ (ppm)	Độ hấp thụ (A)
1	0,5	0,3019
2	0,75	0,4356
3	1	0,5454
4	1,25	0,6812
5	1,5	0,7838
6	4	2,0156



Hình 3. Đường tuyến tính giữa độ hấp thụ và nồng độ formaldehyd trong dung dịch

Nhận xét: Hệ số tương quan  $R^2 = 0,9999$  cho thấy có sự tương quan tuyến tính giữa độ hấp thụ (A) và nồng độ formaldehyd (ppm). Sử dụng trắc nghiệm F cho thấy phương trình hồi quy giữa độ hấp thụ (A) và nồng độ của dãy dung dịch chuẩn formaldehyd (ppm)  $y = 0,4883x + 0,0615$  có tính tương thích, sử dụng trắc nghiệm t cho thấy hệ số B và  $B_0$  có ý nghĩa.

### 3.3.4. Độ chính xác

Độ lặp lại: thực hiện trên 6 mẫu thử khác nhau ở cùng điều kiện xử lý mẫu như trên. Yêu cầu hàm lượng của 6 mẫu có RSD < 2%.

Độ chính xác và độ đúng mang tính thống kê được đánh giá bằng phân tích ANOVA 2 yếu tố từ kết quả phân tích RSD

Bảng 6. Kết quả thử độ lặp lại

Lần thử	Độ hấp thụ (A)	Hàm lượng formaldehyd (ppm)	Thống kê
1	0,5103	0,92	$A_{tb} \pm SD:$ $0,93 \pm 0,01$ RSD = 1,13%
2	0,5126	0,92	
3	0,5230	0,95	
4	0,5194	0,94	
5	0,5189	0,94	
6	0,5221	0,94	

Nhận xét: RSD (%) của hàm lượng formaldehyd (ppm) < 2%. Do đó, quy trình định lượng formaldehyd trong đậu phụ bằng phương pháp UV đạt độ lặp lại.

3.3.5. Độ chính xác trung gian: tiến hành trong 2 ngày khác nhau, mỗi ngày định lượng mẫu thử với quy trình đề nghị. Kết quả định lượng giữa hai ngày không khác nhau có ý nghĩa thống kê.

Bảng 7. Kết quả khảo sát độ chính xác 2 ngày khác nhau của mẫu thử

Lần thử	Ngày thứ 1		Ngày thứ 2	
	Độ hấp thụ (A)	Hàm lượng formaldehyd (ppm)	Độ hấp thụ (A)	Hàm lượng formaldehyd (ppm)
1	0,5103	0,92	0,5178	0,93
2	0,5126	0,92	0,5163	0,93
3	0,523	0,95	0,5175	0,93
4	0,5194	0,94	0,5276	0,95
5	0,5189	0,94	0,5122	0,92
6	0,5221	0,94	0,5152	0,93
Atb ± SD	0,93 ± 0,01		0,93 ± 0,01	
RSD %	1,08			

Nhận xét: Giá trị RSD (%) của hàm lượng formaldehyd (ppm) được xác định từ 6 mẫu thử trong một ngày (độ lặp lại trong ngày) và 12 mẫu thử trong 2 ngày (độ lặp lại khác ngày) đều nhỏ hơn 2%. Như vậy, quy trình định lượng formaldehyd trong đậu phụ có độ chính xác trung gian cao.

### 3.3.6. Độ đúng

Thực hiện bằng phương pháp thêm chuẩn vào mẫu thử có chứa formaldehyd ở các mức 80%, 100% và 120% so với nồng độ định lượng, mỗi mẫu thực hiện 3 lần. Tính tỷ lệ hồi phục theo công thức (2)

$$F = \frac{X}{\mu} \quad (2)$$

Trong đó: F là tỷ lệ hồi phục (%),  $\mu$  là lượng chuẩn thêm vào, X là lượng chuẩn tìm lại được.

Bảng 8. Kết quả thẩm định độ đúng

Nồng độ chuẩn thêm vào (ppm)	Độ hấp thu (A)	Nồng độ tìm lại (ppm)	Tỷ lệ thu hồi	Tỷ lệ hồi phục trung bình (%) RSD (%)
0,8	0,5134	0,81	101,24	$A_{tb} \pm SD = 99,47 \pm 0,45$ RSD % = 0,45
	0,5175	0,79	99,15	
	0,5176	0,80	99,78	
1,0	0,5205	1,02	102,21	$A_{tb} \pm SD = 100,30 \pm 1,92$ RSD % = 1,91
	0,5197	0,98	98,37	
	0,5205	1,00	100,33	
1,2	0,5213	1,21	100,93	$A_{tb} \pm SD = 100,51 \pm 1,90$ RSD % = 1,89
	0,5265	1,23	102,17	
	0,5198	1,18	98,44	

Nhận xét: Tỷ lệ hồi phục formaldehyd nằm trong khoảng 95% - 105% và giá trị RSD < 2%. Do đó, quy trình định lượng formaldehyd bằng phương pháp UV đạt độ đúng.

### 3.3.7. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Giá trị LoD của phương pháp được xác định theo công thức sau:  $LoD = \frac{3,3 \times \delta}{a}$  (3)

Giá trị LoQ của phương pháp được xác định theo công thức sau:  $LoQ = \frac{10 \times \delta}{a}$  (4)

Trong đó:  $\delta$  là độ lệch chuẩn của tập hợp các giá trị độ hấp thu của đường chuẩn,  $a$  là hệ số góc của đường hồi quy tuyến tính.

LoD = 0,02  $\mu$ g/mL (ppm).

LoQ = 0,07  $\mu$ g/mL (ppm).

### 3.4. Định lượng formaldehyd trong đậu phụ tại một số chợ trên địa bàn phường Quy Nhơn Nam

Áp dụng quy trình định lượng đã xây dựng để phân tích một số mẫu đậu phụ tại 3 chợ trên địa bàn thành phố Quy Nhơn (Chợ Đầm, Chợ khu 6, Chợ Ghềnh ráng). Kết quả định lượng được thể hiện ở Bảng 9.

Bảng 9. Hàm lượng formaldehyd trong một số mẫu đậu phụ tại thành phố Quy Nhơn (n=3)

Mẫu	Khối lượng mẫu	Độ hấp thu (A)	Hàm lượng (ppm)	RSD %
Chợ đầm	5,0518	0,4891	0,88	1,14
Chợ khu 6	5,0192	0,4353	0,79	0,73
Chợ khu 6	5,0815	0,4644	0,83	0,69
Chợ khu 6	5,0290	0,5179	0,94	0,62
Chợ Ghềnh Ráng	5,0321	0,5806	1,06	1,44

Nhận xét: Theo nghiên cứu của Seniwati và cộng sự thẩm định formalin nhiễm trong đậu phụ tại Indonesia năm 2022 là 5,92 và 3,34 ppm và có mẫu không nhiễm [12]. Nhưng tại Quy Nhơn các mẫu tiền hành đều bị nhiễm với hàm lượng từ 0,79-1,06 ppm nghi ngờ quy trình tạo dương tính giả. Nên nhóm nghiên cứu tiếp tục tiến hành với 6 mẫu (5 mẫu đậu phụ mua tại siêu thị COOP MART và siêu thị Go, 1 mẫu giấy lau sử dụng trong quá trình làm việc và 1 mẫu hạt đậu tương). Kết quả định lượng được thể hiện ở Bảng 10.

Bảng 10. Hàm lượng formaldehyd trong một số mẫu (n=3)

Mẫu	Khối lượng mẫu	Độ hấp thu (A)	Hàm lượng (ppm)	RSD %
COOP 1	5,0775	0,3399	0,57	1,01

COOP 2	5,0711	0,2872	0,46	1,25
GO 1	5,1238	0,5028	0,90	0,64
GO 2	5,1737	0,6148	1,13	0,51
GO 3	5,0530	0,1421	0,16	0,73
Giấy lau dụng cụ Pulppy	2,0181	0,0047	0,00	0,00
Đậu tương	5,0052	1,0062	1,93	0,30

Nhận xét: Với kết quả như Bảng 10 có mẫu âm tính khả năng quy trình không tạo dương tính giả, nghi ngờ đậu tương có formaldehyd nội sinh. Để chắc chắn hơn, tác giả tiến hành thêm với 8 mẫu (đậu tương, đậu phộng, đậu xanh, gạo, mè, đậu đen, bột mì, bắp). Kết quả định lượng được thể hiện ở Bảng 11.

Bảng 11. Hàm lượng formaldehyd trong một số mẫu (n=3)

Mẫu	Khối lượng mẫu	Độ hấp thu (A)	Hàm lượng (ppm)	RSD %
Bột mì	5,0133	0,1020	0,08	1,28
Đậu tương	5,0184	1,0322	1,99	0,25
Đậu phộng	5,0439	1,3518	2,64	0,38
Mè	5,0388	0,4247	0,74	1,35
Đậu xanh	5,0292	0,6188	1,14	1,34
Bắp	5,1865	0,5196	0,94	0,61
Đậu đen	5,0464	0,6165	1,14	1,75
Gạo	5,0172	0,1943	0,27	0,21

Nhận xét: formaldehyd là một sản phẩm của quá trình trao đổi chất trong thực vật [13]. Formaldehyd được tạo ra từ các hợp chất methyl hóa khác nhau bởi demethylase và từ sự chuyển đổi lẫn nhau của glycine và serine được xúc tác bởi pyridoxal phosphat [14]. Sự hiện diện của formaldehyd tự nhiên có thể cản trở việc phát hiện formaldehyd được thêm vào trong thực phẩm. Vì vậy định lượng hàm lượng formaldehyd tự nhiên trong thực phẩm cũng rất quan trọng để ước tính được lượng formaldehyd thêm vào. Theo cơ quan An toàn Thực phẩm châu Âu (EFSA) lượng formaldehyd tiếp xúc qua đường miệng hàng ngày từ tổng chế độ ăn uống không được vượt quá 100 mg [15], với lượng formadehyd nội sinh như các loại hạt đã khảo sát thì hàm lượng khá nhỏ.

#### 4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xây dựng và thẩm định được quy trình định lượng formaldehyd trong đậu phụ bằng phương pháp UV-Vis, mẫu được thu thập vào ngày 10/7/2023. Kết quả cho thấy quy trình chiết formaldehyd trong đậu phụ đạt hiệu suất cao là: lắc siêu âm 5 phút với dung môi chiết là H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%. Với điều kiện này, quy trình định lượng formaldehyd trong đậu phụ đạt các yêu cầu thẩm định theo hướng dẫn của ICH và đạt tính tương thích hệ thống, độ chọn lọc, độ tuyến tính, giới hạn phát hiện (LOD = 0,02 ppm) và giới hạn định lượng thấp (LOQ = 0,07 ppm), có độ chính xác và độ đúng cao. Kết quả nghiên cứu góp phần hỗ trợ công tác kiểm tra nhanh chóng hàm lượng formaldehyd trong đậu phụ và áp dụng thử nghiệm các mẫu đậu phụ trên địa bàn phường Quy Nhơn Nam. Kết quả cho thấy các mẫu đậu phụ đều nhiễm formaldehyd từ 0,16 – 1,13 ppm và mẫu giấy lau dụng cụ trong quá trình làm việc không nhiễm. Kết quả này gợi ý khả năng các mẫu hạt có formaldehyd nội sinh nhưng giới hạn cho phép bao nhiêu thì chưa có thông tư nào quy định. Đậu tương có formaldehyd nội sinh từ 1,93-1,99 ppm nhưng khi chế biến thành đậu phụ thì lượng formaldehyd từ 0,16-1,13 ppm có thể thấy quá trình chế biến làm giảm lượng formaldehyd. Với lượng formaldehyd nội sinh trong đậu phụ khá thấp. Từ đó chúng ta có thể thấy rằng, đậu phụ trên địa bàn phường Quy Nhơn Nam đảm bảo an toàn vệ sinh thực phẩm.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] S. K. C. Chang, “Soy milk and tofu manufacturing,” in *Handbook of Food Products Manufacturing*, Y. H. Hui, Ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, 2007, pp. 1063–1089.
- [2] H. D. Heck, M. Casanova, and T. B. Starr, “Formaldehyde toxicity—new understanding,” *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 20, no. 6, pp. 397–426, 1990.

- [3] G. J. Hughes, D. J. Ryan, R. Mukherjea, and C. S. Schasteen, "Protein digestibility-corrected amino acid scores (PDCAAS) for soy protein isolates and concentrate: Criteria for evaluation," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no. 23, pp. 12707–12712, 2011.
- [4] Bộ Y tế, *Thông tư 24/2019/TT-BYT: Quy định về quản lý và sử dụng phụ gia thực phẩm*, ban hành ngày 30 Aug. 2019.
- [5] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 9th ed. Belmont, CA, USA: Brooks/Cole, 2013.
- [6] E. Hecht, *Optics*, 4th ed. Boston, MA, USA: Addison-Wesley, 2002.
- [7] A. Albert and E. E. Serjeant, *The Determination of Ionization Constants: A Laboratory Manual*. London, UK: Chapman and Hall, 1984.
- [8] J. N. Miller and J. C. Miller, *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 6th ed. Harlow, UK: Pearson Education, 2018.
- [9] International Conference on Harmonisation (ICH), *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. Geneva, Switzerland, 2005, pp. 1–54.
- [10] T. C. Sơn, *Thẩm định phương pháp và đánh giá độ không đảm bảo đo trong phân tích hoá học*. Hà Nội, Việt Nam: Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, 2023, p. 85.
- [11] J. P. S. Fernandez, M. D. V. Mendoza, B. C. B. Torre, and E. C. Quinto, *Development of a detection method of formalin in foods based on chromotropic acid test*. Department of Chemical Engineering, 2016.
- [12] S. Seniwati, H. R. Qawiy, A. Aminah, and T. Naid, "UV-Visible spectrophotometric determination of formalin contamination in tofu circulated in Maros City—Indonesia," *Pharmaceutical Reports*, vol. 1, no. 2, pp. 15–18, 2022.
- [13] A. Yau, "Formaldehyde in food," *Food Safety Focus*. [Online]. Available: [http://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia\\_pub/multimedia\\_pub\\_fsf\\_06\\_01.html](http://www.cfs.gov.hk/english/multimedia/multimedia_pub/multimedia_pub_fsf_06_01.html)
- [14] L. B. Pontel *et al.*, "Endogenous formaldehyde is a hematopoietic stem cell genotoxin and metabolic carcinogen," *Nature*, vol. 459, pp. 113–117, 2009.
- [15] European Food Safety Authority, "Endogenous formaldehyde turnover in humans compared with exogenous contribution from food sources," *EFSA Journal*, vol. 12, no. 2, pp. 1–11, 2014.

## ABSTRACT

### SIMULTANEOUS DETERMINATION FOR THE QUANTIFICATION OF FORMALDEHYDE IN TOFU BY ULTRAVIOLET-VISIBLE SPECTROSCOPY

Do Thi Hang<sup>1\*</sup>, Vo Thi Huong<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Buon Ma Thuot Medical University*

<sup>2</sup>*Gia Lai Drug, Cosmetic, Food Quality Control Center*

\*Email: [dthang@bmu.edu.vn](mailto:dthang@bmu.edu.vn)

Tofu is regarded as one of the healthiest foods because it contains a high level of protein whose quality is comparable to that of animal protein. Formaldehyde functions as an antibacterial agent by slowing down bacterial activity in protein-rich foods. As a result, it reacts with food proteins and helps extend shelf life. However, when formaldehyde enters the human body, it is mutagenic and carcinogenic, meaning that it can stimulate the development of cancer cells and lead to genetic defects. Thus, in this study, we developed and validated the method for the quantification of formaldehyde in tofu by ultraviolet-visible spectroscopy in Quy Nhon Nam ward - Gia Lai. This research was conducted in July 2023. Formaldehyde contamination in tofu was quantified using UV-Vis spectroscopy. In quantitative analysis, samples were measured with a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 572.0 nm. The results showed that the samples contained formaldehyde levels of 0.88 ppm, 0.79 ppm, 0.83 ppm, 0.94 ppm, 1.06 ppm, 0.57 ppm, 0.46 ppm, 0.90 ppm, 1.13 ppm, and 0.16 ppm respectively.

*Keywords:* Tofu in Quy Nhon Nam market, quantitative formaldehyde, UV-Vis.