

Xác định đồng thời hàm lượng acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol trong rượu trắng ở Hải Dương năm 2018 - 2020

Nguyễn Đức Hoàng*, Trần Quang Cảnh

Labo Xét nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm - Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương

(Ngày đến tòa soạn: 04/8/2020; Ngày chấp nhận đăng: 20/9/2020)

Tóm tắt

Nghiên cứu đã phát triển phương pháp xác định đồng thời acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, iso-butyl alcohol, isoamyl alcohol trong rượu trắng. Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp có độ chính xác đạt yêu cầu với độ thu hồi trong khoảng từ 105 - 108%, độ lặp lại RSD % < 1,57%, giới hạn phát hiện thấp hơn 3,0 mg/L. Kết quả thử nghiệm thành thạo năm 2020 đạt yêu cầu với giá trị Z-score cho các chất đều dưới 2,0. Phương pháp đã được ứng dụng để phân tích 200 mẫu rượu trắng chưng cất và 50 mẫu rượu pha chế được lấy trên địa bàn thành phố Hải Dương trong thời gian từ 2018 đến 2020. Có 03/200 mẫu rượu trắng pha chế có hàm lượng methanol vượt giới hạn cho phép. Dựa vào tỷ lệ giữa hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol so với hàm lượng methanol trong cùng một mẫu, có thể sơ bộ đánh giá phân biệt rượu trắng pha chế và rượu trắng chưng cất.

Từ khóa: Acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, iso-butyl alcohol, isoamyl alcohol, rượu trắng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rượu là đồ uống truyền thống lâu đời, đã trở thành một phần không thể thiếu trong văn hóa ẩm thực của nhiều dân tộc trên thế giới, trong đó có Việt Nam. Tuy nhiên, việc sử dụng rượu kém chất lượng hay lạm dụng rượu quá mức có tác dụng có hại đối với sức khỏe [1]. Một số vụ ngộ độc rượu đã xảy ra trong thời gian qua như vụ ngộ độc tại Nam Giang (Quảng Nam) năm 2018, ít nhất có 03 người tử vong và hàng chục người phải nhập viện [2], vụ ngộ độc tại Thanh Hóa năm 2020 có 02 người tử vong [3].

Theo TCVN 7043 : 2013, rượu trắng được phân chia thành 02 nhóm gồm rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế với các mức hàm lượng tối đa của các chỉ tiêu aldehyde (acetaldehyde), ester (ethyl acetate), methanol, rượu bậc cao (isobutyl alcohol, isoamyl alcohol) khác nhau giữa hai nhóm [3]. Để xác định hàm lượng của các hợp chất này trong rượu, phương pháp được sử dụng phổ biến là sắc ký khí với detector FID. Hiện nay, một số TCVN đã được ban hành để xác định từng chất nói trên trong rượu bao gồm TCVN 8009 : 2009 xác định hàm lượng acetaldehyde [4], TCVN 8010 : 2009 xác định hàm lượng methanol [5] và TCVN 8011 : 2009 xác định hàm lượng ester và rượu bậc cao [6]. Các tiêu chuẩn này có điểm chung là đều sử dụng cột sắc ký loại WAX (pha tĩnh là polyethylene glycol) và phân tích dựa vào phương pháp nội chuẩn với chất chuẩn nội là n-butyl alcohol.

*Điện thoại: 0834060883 Email: hoang.ou.utech.hcm@gmail.com

Trên địa bàn tỉnh Hải Dương, hiện nay có nhiều cơ sở sản xuất rượu trắng bao gồm cả hai nhóm rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế. Tuy nhiên, cho đến thời điểm hiện tại vẫn chưa có một báo cáo chính thức nào công bố về đánh giá thực trạng hàm lượng một số chất có trong rượu trắng tại Hải Dương. Hơn nữa, việc áp dụng TCVN 7043 : 2013 gặp khó khăn do việc phân loại rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế là chưa rõ ràng. Xuất phát từ những yêu cầu thực tế nêu trên, nghiên cứu đã được thực hiện nhằm phát triển phương pháp xác định đồng thời acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol, và isoamyl alcohol trong rượu trắng và ứng dụng phương pháp này để đánh giá các chất nói trên trong các mẫu rượu trắng trên một số địa bàn của tỉnh Hải Dương giai đoạn 2018 - 2020.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu nghiên cứu là 200 mẫu rượu trắng chưng cất được lấy từ các cơ sở sản xuất và lưu thông trên địa bàn tỉnh Hải Dương từ 07/2018 đến 07/2020, đồng thời nghiên cứu cũng phân tích đối chứng 50 mẫu rượu trắng pha chế (rượu được pha từ cồn thực phẩm).

2.2. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất

Các chất nghiên cứu được xác định đồng thời bằng phương pháp sắc ký khí với detector ion hóa ngọn lửa: Thiết bị chính là GC 7890A với detector là FID (Agilent, Mỹ). Các vật tư, thiết bị khác bao gồm ống đồng hình trụ bằng thủy tinh, dung tích 50 mL, rượu kế đo ở 20°C, chia vạch 0,1°, thang đo 0 - 60°C. Nhiệt kế đo được từ 0°C đến 50°C, chia vạch 0,5°C.

Các chất chuẩn và hóa chất được sử dụng bao gồm acetaldehyde (99%), ethyl acetate (99,5%), methanol (99,8%), isobutyl alcohol (99,5%), isoamyl alcohol (99%) và ethanol (99,5%) của hãng Merck.

2.3. Phương pháp lấy mẫu

Phương pháp lấy mẫu theo quy trình lấy mẫu thanh tra hậu kiểm An toàn vệ sinh thực phẩm, với một số trường hợp thu thập từ nguồn mẫu khác, thực hiện lấy ngẫu nhiên các mẫu từ các cơ sở sản xuất, từ các cửa hàng, nhà hàng trên địa bàn tỉnh sau đó mã hóa, niêm phong, bảo quản theo quy định sản phẩm và chuyển về phòng thí nghiệm tại Labo Xét nghiệm An toàn Vệ sinh Thực phẩm, Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương để phân tích.

2.4. Phát triển và thẩm định phương pháp phân tích

Trên cơ sở các TCVN về xác định từng thành phần, nhóm nghiên cứu đã phát triển phương pháp xác định đồng thời 05 hợp chất trong rượu trắng sử dụng sắc ký khí với detector FID. Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn thẩm định phương pháp phân tích [7] với các thông số thẩm định bao gồm khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện, độ chụm và độ đúng. Phương pháp đã được áp dụng để tham gia chương trình thử nghiệm thành thạo do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia tổ chức năm 2020.

2.5. Đánh giá hàm lượng các chất trong mẫu và xử lý số liệu

Hàm lượng các hợp chất được xác định và đưa về % theo độ cồn 100°, sau đó đánh giá hàm lượng các chất dựa theo TCVN 7043 : 2013. Xử lý số liệu bằng các phần mềm của thiết bị GC 7890A hãng Agilent và kết hợp với phần mềm MS Excel 2010.

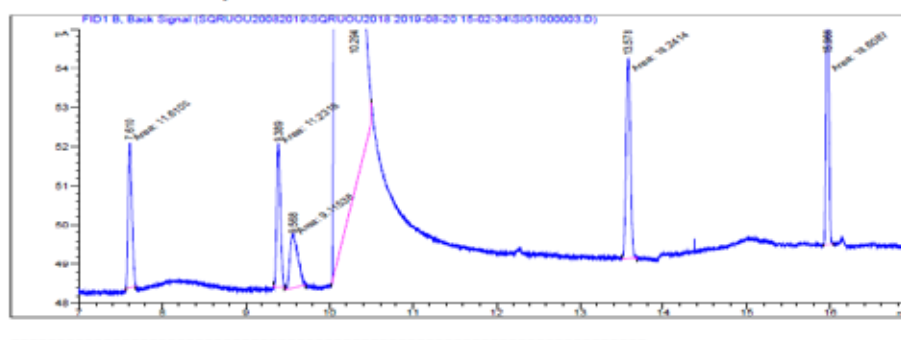
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả phát triển và thẩm định phương pháp

3.1.1 Kết quả khảo sát điều kiện phân tích bằng GC-FID

Nghiên cứu đã khảo sát nhiều chế độ, chương trình nhiệt độ khác nhau, kết quả tối ưu như sau: Cột mao quản Supelcowax 10 (60 m × 0,32 mm; 0,25 μm); thể tích bơm mẫu: 1 μl; nhiệt độ Injector: 250°C; chế độ bơm: Chia dòng (Split ratio 5:1); khí mang N₂, tốc độ dòng: 1 ml/phút. Chương trình nhiệt độ: nhiệt độ ban đầu 60°C (giữ trong 9 phút), sau đó tăng 15°C/phút lên 150°C (giữ trong 5 phút), cuối cùng tăng 40°C/phút lên 200°C (giữ trong 4 phút). Nhiệt độ detector: 280°C, khí H₂: 30 mL/phút, không khí: 300 mL/phút, khí N₂: 30 mL/phút.

Chuẩn hỗn hợp 05 chất phân tích ở điều kiện đã khảo sát được ở trên, các pic được tách theo thứ tự lần lượt là acetaldehyde ở 7,610 phút; ethyl acetat ở 9,389 phút; methanol ở 9,568 phút; isobutyl alcohol ở 13,578 phút và isoamyl alcohol ở 15,966 phút (Hình 1). Có thể nhận thấy, các pic đã được tách khỏi pic ethanol là chất có hàm lượng cao trong mẫu, đồng thời 02 chất ethyl acetate và methanol đã tách khỏi nhau hoàn toàn. Phương pháp này có thể thay thế 03 TCVN gồm: TCVN 8009, TCVN 8010 và TCVN 8011 để xác định hàm lượng các hợp chất này trong rượu trắng.



Hình 1. Sắc đồ hỗn hợp chuẩn acetaldehyde (8,5 mg/L), ethyl acetate (10 mg/L), methanol (10 mg/L), isobutyl alcohol (10 mg/L) và isoamyl alcohol (10 mg/L)

3.1.2. Kết quả thẩm định phương pháp

3.1.2.1. Khoảng tuyến tính

Khoảng tuyến tính của phương pháp được xác định bằng cách phân tích dãy dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng từ 8,5 - 200 mg/L (tùy chất) sử dụng n-butyl alcohol làm nội chuẩn (Bảng 1).

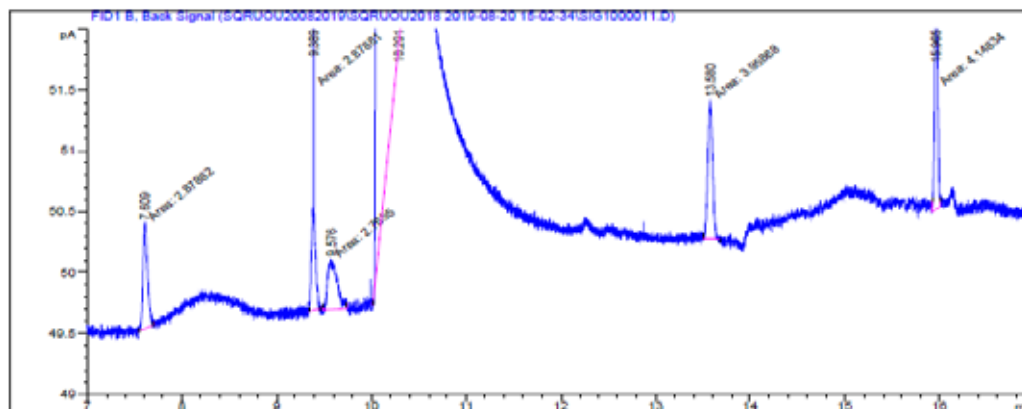
Bảng 1. Các thông số đường chuẩn xác định acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol

Chất phân tích	Khoảng nồng độ, mg/L	Đường chuẩn	Hệ số tương quan R ²
Acetaldehyde	8,5 - 170	Y = 0,4396x + 0,1751	0,9999
Ethyl acetate	10,0 - 200	Y = 0,4066x + 0,1914	0,9990
Methanol	10,0 - 200	Y = 0,3278x + 0,2284	0,9996
Isobutyl alcohol	10,0 - 200	Y = 0,7294x - 0,4075	0,9999
Isoamyl alcohol	10,0 - 200	Y = 0,7801x - 0,8249	0,9999

Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ từ 8,5 - 170 mg/L đối với acetaldehyde và từ 10,0 đến 200 mg/L đối với ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol, có sự phụ thuộc tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ, kết quả mối tương quan giữa nồng độ và tỷ lệ diện tích pic với hệ số tương quan $R^2 > 0,999$.

3.1.2.2. Xác định LOD, LOQ

LOD và LOQ của phương pháp được tính dựa theo tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu (S/N). Hình 3 giới thiệu sắc đồ các hợp chất được phân tích tại nồng độ LOD.



Hình 3. Sắc đồ của các chất phân tích tại LOD

Kết quả LOD và LOQ của các chất xác định được tương ứng là 3 và 10,0 mg/L; trừ acetaldehyde là 2,5 và 8,5 mg/L. Có thể thấy, giá trị LOD rất nhỏ so với giới hạn cho phép của các chất trong trong rượu nên phương pháp đảm bảo cho việc phát hiện và định lượng.

3.1.2.3. Xác định độ đúng và độ chụm

Độ đúng (độ thu hồi) và độ chụm (độ lặp lại) của phương pháp được đánh giá bằng cách thêm chuẩn trên nền mẫu trắng tại 2 khoảng nồng độ tương đương với C1 (từ 8,5 - 10,0 mg/L) và C2 (21,0 - 25,0 mg/L). Kết quả cho thấy, độ lệch chuẩn tương đối lặp lại RSD (%) < 1,57%, độ thu hồi khoảng từ 105 - 108%, đáp ứng yêu cầu của AOAC [8].

3.1.3. Kết quả tham gia thử nghiệm thành thạo

Nghiên cứu đã tham gia thử nghiệm thành thạo do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia tổ chức vào tháng 06/2020 với các giá trị Z'-Score cho các chất đều đạt yêu cầu ($|Z\text{-score}| \leq 2$) thể hiện theo Bảng 2.

Bảng 2. Kết quả tham gia thử nghiệm thành thạo

Chỉ tiêu	Z-score
Acetaldehyde	- 1,38
Ethyl acetate	0,83
Methanol	0,75
Rượu bậc cao	- 0,40
Ethanol	1,78

Như vậy, dựa vào các kết quả của thẩm định phương pháp, các kết quả liên phòng thí nghiệm cho thấy phương pháp trên đã được chuẩn hóa, chính xác, đạt yêu cầu, ưu điểm phân tích đồng thời được nhiều chất chỉ trong một lần phân tích, rút ngắn được thời gian trả kết quả và tiết kiệm chi phí so với phân tích từng chất theo TCVN.

3.2. Kết quả đánh giá hàm lượng acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol trong các mẫu rượu trắng trên một số địa bàn tỉnh Hải Dương

Nghiên cứu thực hiện phân tích tổng số 200 mẫu rượu trắng đã được thu thập, kết quả phân tích xác định hàm lượng các chất được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả phân tích hàm lượng các chất nghiên cứu trên 200 mẫu rượu trắng

Chất phân tích	Nồng độ (mg/L cồn 100°)					Số mẫu vượt ngưỡng
	Nhỏ nhất	Lớn nhất	Trung bình	Trung vị	Độ lệch chuẩn	
<i>Acetaldehyde</i>	0,0	705,85	132,75	105,94	128,39	-
<i>Ethyl acetate</i>	0,0	6712,30	501,37	288,86	901,32	-
<i>Methanol</i>	0,0	699082,68	6845,53	54,35	83093,15	3
<i>Isobutyl alcohol</i>	0,0	1917,52	570,49	521,57	430,31	-
<i>Isoamyl alcohol</i>	0,0	1976,90	489,52	695,54	489,52	-

Kết quả phân tích 200 mẫu rượu trắng chưng cất cho thấy, chỉ có 03 mẫu vượt ngưỡng cho phép về hàm lượng methanol (2.000 mg/L cồn 100°) chiếm 1,5%, 197 mẫu còn lại đạt yêu cầu theo TCVN 7043 : 2013. Nghiên cứu nhận thấy rằng thành phần hàm lượng các chất của 03 mẫu này có hàm lượng các chất khác hẳn so với 197 mẫu đạt yêu cầu, hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol tương ứng chủ yếu nằm trong khoảng nhỏ từ 0 - 10 mg/L cồn 100°. Giá trị trung vị của hàm lượng methanol chỉ là 54,35 mg/L rượu 100° cho thấy nhìn chung các mẫu rượu trắng trên thị trường đạt yêu cầu về hàm lượng methanol. Tuy nhiên, giá trị trung vị của acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol đều cao hơn 100 mg/L rượu 100° cho thấy cần thiết phải thiết lập mức quy định hàm lượng các chất này trong mẫu rượu trắng nói chung. Hơn nữa, thực tế rất khó phân biệt đâu là mẫu rượu trắng chưng cất, đâu là mẫu rượu trắng pha chế khi đã được bán trên thị trường, do đó cần thống nhất mức quy định về hàm lượng các chất trong mẫu rượu trắng nói chung.

3.3. Sơ bộ đánh giá phân biệt rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế

Bảng 4 đánh giá khoảng hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol so với hàm lượng methanol trong 200 mẫu rượu trắng chưng cất và 50 mẫu rượu trắng pha chế được lấy trên thị trường.

Bảng 4. Khoảng hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol so với hàm lượng methanol trong mẫu rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế

Methanol	Acetaldehyde	Ethyl acetate	Isobutyl alcohol	Isoamyl alcohol	
Hàm lượng (mg/L cồn 100°)	Tỷ lệ mẫu (%)	Hàm lượng các chất tương ứng với khoảng hàm lượng methanol (mg/L cồn 100°)			
Rượu trắng chưng cất					
0 - 20	16,0	0,0 - 706	0,0 - 5521	0,0 - 797	0,0 - 1713
20 - 100	61,5	0,0 - 606	0,0 - 4687	0,0 - 1886	0,0 - 1908
100 - 2000	21,0	1,9 - 665	10,3 - 2020	0,0 - 1918	0,0 - 1977
> 2000 (Vượt ngưỡng)	1,5	0,0 - 219	0,0 - 6712	0,0 - 328	0,0 - 431
Rượu trắng pha chế					
0 - 20	88,0	0,0 - 25,2	0,0 - 329	0,0 - 23,2	19,0 - 97,2
20 - 100	12,0	0,0 - 11,5	0,0	0,0 - 3,7	19,4 - 36,0
> 100 (Vượt ngưỡng)	0,0	-	-	-	-

Đối với mẫu rượu trắng chưng cất, hàm lượng methanol dao động khá lớn, phần lớn (61,5%) nằm trong khoảng từ 20 - 100 mg/L cồn 100°. Hàm lượng của các chất khá dao động. Tuy nhiên, phần lớn ở mức cao so với hàm lượng methanol, đa số các mẫu có hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol lớn hơn 100 mg/L cồn 100° (chiếm tỷ lệ 91,7%). Trừ các mẫu có hàm lượng methanol cao đột biến (> 2000 mg/L cồn 100°), có hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol thấp không tuân theo tỷ lệ nói trên, có thể do các mẫu này là mẫu rượu gian dối được chế biến từ cồn methanol. Trong khi đó, đối với mẫu rượu trắng pha chế, hàm lượng methanol của rượu pha chế chủ yếu nằm trong khoảng từ 0 - 20 mg/L cồn 100°, có 44 mẫu nằm trong khoảng này và chiếm tỷ lệ tới 88,0%. Hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol thấp hơn nhiều so với mẫu rượu trắng chưng cất, chủ yếu chỉ nằm trong khoảng từ 0 - 10 mg/L cồn 100° chiếm tỷ lệ 90,7 - 100%.

Có thể nhận thấy điểm chung là các mẫu rượu trắng chưng cất có hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol tương ứng chủ yếu tập chung khoảng hàm lượng > 100 mg/L cồn 100°, trong khi hàm lượng tương ứng trong mẫu rượu trắng pha chế < 10 mg/L cồn 100°. Dựa vào đặc điểm này, có thể sơ bộ phân loại giữa rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã phát triển được phương pháp xác định đồng thời acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol, rút ngắn thời gian phân tích mẫu so với việc áp dụng các phương pháp riêng biệt. Kết quả thẩm định và thử nghiệm thành thạo cho

thấy phương pháp đáp ứng được các yêu cầu đặt ra để xác định hàm lượng các chất trong mẫu rượu trắng. Kết quả phân tích 200 mẫu rượu trắng chưng cất được lấy trên một số địa bàn của tỉnh Hải Dương có 197 mẫu đạt yêu cầu, có 03 mẫu vượt ngưỡng cho phép. Dựa vào tỷ lệ hàm lượng các chất acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol và isoamyl alcohol với hàm lượng methanol trong cùng một mẫu có thể sơ bộ phân biệt giữa rượu trắng chưng cất và rượu trắng pha chế.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Bộ Y tế, “Điểm tin y tế ngày 18/3/2018”. [Trực tuyến]. https://www.moh.gov.vn/diem-tin-y-te/-/asset_publisher/sqTagDpp4aRX/content/-iem-tin-y-te-ngay-18-3-2018?inheritRedirect=false [Truy cập 20/04/2020].
- [2]. Báo Nhân Dân, “Hai người ở Thanh Hóa tử vong sau khi uống rượu”. [Trực tuyến]. <https://nhandan.com.vn/tin-tuc-xa-hoi/hai-nguoi-o-thanh-hoa-tu-vong-sau-khi-uong-ruou-455914/> [Truy cập 20/04/2020].
- [3]. TCVN 7043 :2013, Tiêu chuẩn về rượu trắng, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, 2013.
- [4]. TCVN 8009 : 2009, *Rượu chưng cất - Xác định hàm lượng Acetaldehyde*, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, 2009.
- [5]. TCVN 8010 : 2009, *Rượu chưng cất - Xác định hàm lượng Methanol*, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, 2009.
- [6]. TCVN 8011 : 2009, *Rượu chưng cất - phương pháp xác định hàm lượng rượu bậc cao và etyl axetat bằng sắc ký khí*, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo Chất lượng - Bộ Khoa học và Công nghệ, 2009.
- [7]. Trần Cao Sơn, *Thẩm định phương pháp trong phân tích hoá học và vi sinh vật*, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật, 2010.
- [8]. AOAC Official Methods of Analysis, *Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements*, 2012.

Simultaneous determination of acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol and isoalmyl acohol concentrations in white alcohol in Hai Duong province in 2018 - 2020

Nguyen Duc Hoang, Tran Quang Canh

Food Safety and Hygiene Laboratory - Hai Duong Medical Technical University

Abstract

The research has developed a method for simultaneous determination of acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol in white alcohol. Validation results show that the method has satisfactory accuracy with recovery in the range of 105 - 108%,

repeatability RSD < 1.57%, detection limit below 3 mg/L for all compounds. Proficiency test results in 2020 were satisfactory with Z-scores of all substances below 2.0. The method has been applied to analyze 200 distilled alcohol samples and 50 blended alcohol samples taken in Hai Duong city during the period from 2018 to 2020. Three of 200 distilled alcohol samples have the methanol content higher than the maximum limit. The relationship between methanol content in proportion to content of acetaldehyde, ethyl acetate, isobutyl alcohol, and isoamyl alcohol in the same sample has been evaluated to distinguish between blended alcohol and distilled alcohol.

Keywords: *acetaldehyde, ethyl acetate, methanol, isobutyl alcohol, isoamyl alcohol.*