

Xác định gián tiếp Cloxacillin bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (F-AAS)

Phùng Thị Phương

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên

Luận văn ThS Chuyên ngành : Hóa phân tích; Mã số: 60 44 29

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Phạm Luận

Năm bảo vệ: 2011

Abstract: Tổng quan cơ sở lý luận về vấn đề cần nghiên cứu: Giới thiệu chung về chất kháng sinh; Giới thiệu Cloxacilin; Các phương pháp phân tích Cloxacilin. Trình bày đối tượng, phương pháp nghiên cứu cũng như các trang thiết bị, dụng cụ, hóa chất để nghiên cứu. Tiến hành thực nghiệm và trình bày một số kết quả nghiên cứu: Khảo sát điều kiện đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa của Ag; Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng tới phép đo phổ F-AAS của Ag; Xây dựng đường chuẩn và đánh giá phép đo phổ F-AAS của Ag...

Keywords: Hóa học; Hóa phân tích; Cloxacillin; Phổ hấp thụ nguyên tử

Content

Từ lâu việc sử dụng rộng rãi các kháng sinh bổ sung vào thức ăn gia súc cho thấy chúng không những được dùng để chống nấm mốc mà còn có tác dụng kích thích tăng trưởng, tăng cường hiệu quả sử dụng thức ăn, giảm tỉ lệ chết và còi cọc, tăng khả năng sinh sản. Tuy nhiên, sử dụng thức ăn có bổ sung kháng sinh trong thời gian dài sẽ dẫn đến tình trạng tồn dư kháng sinh trong sản phẩm, lượng kháng sinh tồn dư này có thể gây dị ứng, gây bệnh cho con người khi sử dụng sản phẩm đó. Đồng thời bổ sung kháng sinh vào thức ăn gia súc sẽ gây hiện tượng nhờn thuốc phát triển các loại vi khuẩn độc hại kháng thuốc.

Ở Việt Nam, theo nghiên cứu của một số tác giả, kháng sinh được sử dụng tràn lan trong thức ăn cho lợn, gia cầm và tình trạng tồn dư kháng sinh trong thịt là phổ biến. Các nghiên cứu đều cho rằng hầu hết các cơ sở chăn nuôi đều sử dụng kháng sinh không hợp lý (không xét nghiệm kháng sinh đồ, sử dụng theo kinh nghiệm không đúng liều lượng), một số cơ sở chăn nuôi không dùng thuốc đúng quy định, bán chạy khi sử dụng thuốc không hiệu quả. Từ đó dẫn đến tồn dư kháng sinh trong thực phẩm cao gấp hàng chục cho đến hàng nghìn lần so với tiêu chuẩn quốc tế(CODEX).

Chính vì vậy, kháng sinh là một trong những đối tượng cần phải kiểm soát dư lượng trong thực phẩm bởi những độc tính, những tác dụng phụ có thể gây ra cho con người khi sử dụng thực phẩm có tồn dư lượng kháng sinh.

Việc nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật phân tích mới để xác định dư lượng kháng sinh trong thực phẩm là yêu cầu cần thiết.

Trên thế giới, phương pháp phân tích phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) đã được ứng dụng rất phổ biến. Phương pháp này có nhiều ưu điểm: độ nhạy và độ chọn lọc cao, có thể xác định nhiều ion trong cùng một dung dịch, cho phép phân tích nhanh hàng loạt với độ chính xác và lặp lại cao, các thao tác tiến hành đơn giản và thuận tiện, có thể tự động hoá quá trình phân tích. Ở nước ta phương pháp phân tích phổ hấp thụ nguyên tử đã là một trong các phương pháp tiêu chuẩn để phân tích lượng vết các kim loại trong nhiều đối tượng khác nhau như: đất, nước, không khí, thực phẩm,... Ngày nay bằng cách gián tiếp người ta đã xác định hàng trăm chất hữu cơ và các phi kim với độ nhạy, độ chính xác cao. Với các kết quả đó chúng tôi nhận thấy phương pháp AAS là một phương pháp thích hợp để xác định gián tiếp Cloxacilin trong thực phẩm.

Vì vậy trong bản luận văn này chúng tôi tiến hành nghiên cứu tìm điều kiện phù hợp để xây dựng quy trình xác định Cloxacilin trong thực phẩm. Từ kết quả thực nghiệm xây dựng một quy trình xác định gián tiếp Cloxacilin bằng phép đo phổ hấp thụ nguyên tử (F-AAS).

NỘI DUNG LUẬN VĂN

I. Lý do chọn đề tài

Với mục tiêu là xác định lượng dư thuốc kháng sinh trong thực phẩm từ đó tìm ra biện pháp khắc phục.

II. Mục đích nghiên cứu.

Nghiên cứu tìm điều kiện phù hợp để xây dựng quy trình xác định Cloxacilin trong thực phẩm. Từ kết quả thực nghiệm xây dựng một quy trình xác định gián tiếp Cloxacilin bằng phép đo phổ hấp thụ nguyên tử.

III. Tóm tắt luận văn

Tổng quan

1. Tác hại của lượng dư cloxacillin

Kháng sinh Cloxacilin có độc tính thấp, nhưng cũng dễ gây dị ứng thuốc: dị ứng, mề đay, vàng da, gây độc với thận, rối loạn tiêu hóa... nguy hiểm nhất là sốc phản vệ.

Thuốc không dùng cho trẻ sơ sinh và bà mẹ trong thời kỳ cho con bú. Chống chỉ định dị ứng với thành phần của thuốc.

Ngoài ra Cloxacilin còn có tác dụng phụ là làm chuyển màu xin men răng, giảm liên kết răng lợi, giòn xương và cản trở sự phát triển xương, răng ở trẻ em trong thời kỳ phát triển (dưới 8 tuổi).

2. Các phương pháp định lượng Cloxacillin

- Phương pháp quang học

- Phương pháp điện hóa
- Phương pháp điện di mao quản (*Capillary electrophoresis* - CE)
- Sắc ký bản mỏng (TLC)
- Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)
- Phương pháp phân tích vi sinh (ELISA)
- Phương pháp phân tích dòng chảy (FIA)
- Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử

Thực nghiệm

Xử lý mẫu thực phẩm:

Đối với mẫu thực phẩm: Rửa sạch, tráng nước cất, để ráo nước rồi xay nhuyễn, sau đó cân 10,00 gam mẫu vào bình nón có nút nhám 50 ml, thêm 20 ml đệm McIlvaine-EDTA và lắc mạnh bằng máy lắc ngang trong 30 phút. Gạn lấy dịch trong vào bình nón khác, bã được chiết tiếp hai lần như trên mỗi lần bằng 5 ml dung dịch đệm McIlvaine-EDTA, gộp dịch trong vào bình nón, thêm 3 ml axit triclooaxetic 0,5 g/ml vừa cho vừa lắc nhẹ trong khoảng 1 phút. Để bình nón vào nước đá khoảng 15 phút, lọc thu lấy dịch trong vào bình nón 30 ml. Dịch lọc sau đó được cho qua cột SPE-C₁₈ (hoạt hóa bằng 6 ml MeOH, 6 ml nước cất). Rửa cột SPE bằng 10 ml nước cất, hút chân không đến khô. Rửa giải bằng 2 ml axit oxalic trong metanol. Dịch rửa giải chính là dung dịch dùng để xác định Cloxacillin.

Kết quả và thảo luận

1. Tối ưu hóa các điều kiện đo phổ F-AAS của Ag

	Các yếu tố	Giá trị tối ưu
Thông số máy	Vạch phổ hấp thụ (nm)	Ag – 328,1
	Khe đo (nm)	0,5
	Cường độ dòng đèn HCL (mA)	10 (66,67% I _{max})
	Chiều cao Burner (mm)	6
	Tốc độ dẫn khí:KK/C ₂ H ₂ (l/h)	50/7,2
	Tốc độ dẫn mẫu(ml/phút)	4
	Thành phần nền	Nồng độ HNO ₃ (%)
Nồng độ CH ₃ COONH ₄ (%)		1
Giới hạn phát hiện (ppm)		0,14
Giới hạn định lượng (ppm)		0,46
Khoảng tuyến tính (ppm)		0,5 – 5

2. Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag

2.1. Khảo sát ảnh hưởng của các loại axit và nồng độ axit

Nguyên tắc giữ cố định nồng độ ion kim loại nhưng pha trong các dung dịch axit có nồng độ biến thiên và khảo sát độ hấp thụ của nguyên tố Ag 3 ppm từ dung dịch gốc. Kết quả khảo sát được chỉ ra ở bảng 3.6:

Bảng 3.6. Khảo sát nồng độ axit HNO₃

HNO ₃ (%)	Abs				RSD (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
0	0,4098	0,4123	0,4106	0,4109	1,15
0,5	0,4034	0,4124	0,4136	0,4098	5,08
1	0,3979	0,3056	0,4082	0,4039	5,16
2	0,4179	0,4176	0,4170	0,4175	0,39
3	0,4093	0,4156	0,4120	0,4123	2,82
5	0,4013	0,4082	0,3956	0,4017	6,20

Theo kết quả khảo sát trên, chúng tôi chọn nồng độ axit mà tại đó độ hấp thụ quang cao và ổn định, có độ lặp lại tốt tức là ít bị ảnh hưởng bởi nồng độ axit. Ta thấy rằng, axit HNO₃ với nồng độ 2% cho độ hấp thụ quang cao, ổn định. Do đó ta chọn axit HNO₃ 2% làm môi trường axit hóa để đo phổ của Ag.

2.2. Khảo sát ảnh hưởng thành phần nền của mẫu

Trên cơ sở lý thuyết của phép đo F-AAS, chúng tôi tiến hành khảo sát với chất nền CH₃COONa (NaAc) và CH₃COONH₄ (NH₄Ac) có nồng độ biến thiên từ 0 – 5% đối với dung dịch Ag 3 ppm trong HNO₃ 2%. Kết quả được chỉ ra ở bảng 3.7:

Bảng 3.7. Khảo sát ảnh hưởng thành phần nền của mẫu Ag

NH₄Ac(%)	Abs				RSD (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
0	0,4007	0,3992	0,4034	0,4011	2,11
0,5	0,3956	0,3895	0,3877	0,3909	4,56
1	0,4081	0,4079	0,4074	0,4078	0,33
1,5	0,3898	0,3912	0,3935	0,3915	2,04
2	0,3995	0,4023	0,4011	0,4010	1,39
3	0,3972	0,3914	0,3901	0,3929	4,07
5	0,3890	0,3916	0,3923	0,3910	1,91
NaAc (%)	Abs				RSD (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình	
0	0,3911	0,3917	0,3921	0,3916	0,55
0,5	0,3885	0,3896	0,3882	0,3888	0,83
1	0,3884	0,3887	0,3877	0,3883	0,46
1,5	0,3984	0,3967	0,3974	0,3975	0,88
2	0,3926	0,3915	0,3923	0,3921	0,62
3	0,3901	0,3896	0,3912	0,3903	0,91
5	0,3927	0,3936	0,3931	0,3931	0,49

Kết quả khảo sát cho thấy nền NH₄COOCH₃ 1% (NH₄Ac) cho cường độ cao nhất và ổn định nhất, độ lặp lại cao nhất trong số các nồng độ dung dịch đã khảo sát. Do đó, từ đây chúng tôi chọn nền CH₃COONH₄ 1% để làm dung dịch nền trong phép đo phổ hấp thụ F – AAS cho nguyên tố Ag.

2.3. Khảo sát ảnh hưởng của các cation

2.3.1. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại kiềm

Mẫu nghiên cứu là dung dịch Ag 3 ppm trong HNO₃ 2% nền NH₄Ac 1% với sự có mặt của các cation kim loại kiềm. Kết quả được chỉ ra ở bảng 3.9:

Bảng 3.9. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại kiềm

Mẫu	C₀	C₁	C₂	C₃	C₄
K ⁺ (ppm)	0	10	20	30	50
Na ⁺ (ppm)	0	10	20	30	50
Abs _{TB} -Ag	0,3987	0,3989	0,3991	0,3990	0,3989
RSD (%)	1,14	1,58	3,05	0,47	1,36

Kết quả khảo sát cho thấy với khoảng nồng độ K^+ , Na^+ như trên, khi có mặt trong mẫu phân tích không làm ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag.

2.3.2. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại kiềm thổ

Nhóm kim loại kiềm thổ được khảo sát trong dung dịch Ag 3 ppm trong HNO_3 2% nền NH_4Ac 1% với sự có mặt của các cation kim loại kiềm thổ. Kết quả khảo sát được chỉ ra ở bảng 3.10:

Bảng 3.10. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại kiềm thổ

Mẫu	C ₀	C ₅	C ₆	C ₇	C ₈
Ca ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Mg ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Ba ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Abs _{TB} - Ag	0,3998	0,4002	0,4005	0,4010	0,4011
RSD (%)	1,38	2,51	0,79	2,29	1,59

Như vậy, với khoảng nồng độ Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ba^{2+} như trên, khi có mặt trong mẫu phân tích hầu như không làm ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag.

2.3.3. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại hoá trị 3

Nhóm kim loại hoá trị 3 được khảo sát trong dung dịch Ag 3 ppm trong HNO_3 2% nền NH_4Ac 1% với sự có mặt của các cation kim loại hoá trị 3 ở khoảng nồng độ:

- Al^{3+} với nồng độ từ 0 – 50 ppm
- Fe^{3+} với nồng độ từ 0 – 100 ppm
- Cr^{3+} với nồng độ từ 0 – 10 ppm

Kết quả khảo sát được chỉ ra ở bảng 3.11:

Bảng 3.11. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại hóa trị III

Mẫu	C ₀	C ₉	C ₁₀	C ₁₁	C ₁₂
Al ³⁺ (ppm)	0	10	20	40	50
Abs TB	0,4007	0,4008	0,4011	0,4015	0,4012
RSD (%)	1,37	1,55	1,19	0,57	2,03
Mẫu	C ₀	C ₁₃	C ₁₄	C ₁₅	C ₁₆
Fe ³⁺ (ppm)	0	20	60	80	100
Abs TB	0,3981	0,3986	0,3991	0,3994	0,3989
RSD (%)	0,89	2,48	2,01	1,45	1,17
Mẫu	C ₀	C ₁₇	C ₁₈	C ₁₉	C ₂₀
Cr ³⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Abs _{TB} - Ag	0,3983	0,4011	0,4010	0,3978	0,3985
RSD (%)	0,84	0,56	1,14	1,72	2,09

Kết quả khảo sát cho thấy, trong dung dịch mẫu phân tích khi có mặt của các kim loại hoá trị 3 ở các khoảng nồng độ đã khảo sát hầu như không gây ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag.

2.3.4. Khảo sát ảnh hưởng của các cation kim loại hoá trị II

Mẫu nghiên cứu là dung dịch Ag 3 ppm trong HNO₃ 2% nền NH₄Ac 1% với sự có mặt của các cation kim loại nặng. Kết quả khảo sát chỉ ra ở bảng 3.12:

Bảng 3.12. Khảo sát ảnh hưởng các cation kim loại hoá trị II

Mẫu (ppm)	C ₀	C ₂₁	C ₂₂	C ₂₃	C ₂₄
Pb ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Cu ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Zn ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Ni ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Abs _{TB} - Ag	0,4003	0,4006	0,4011	0,3997	0,3994
RSD (%)	2,48	1,78	0,19	1,47	2,25

Kết quả khảo sát cho thấy, khi có mặt của các cation kim loại nặng với khoảng nồng độ như trên thì việc đo phổ của Ag không bị ảnh hưởng.

2.3.5. Khảo sát ảnh hưởng của tổng các cation

Dung dịch khảo sát là Ag 3 ppm trong HNO₃ 2% nền NH₄Ac 1% , tất cả các cation đã khảo sát ở trên với các nồng độ khác nhau. Kết quả khảo sát được chỉ ra ở bảng 3.13:

Bảng 3.13. Khảo sát ảnh hưởng của tổng cation

Mẫu	C ₀	C ₂₅	C ₂₆	C ₂₇	C ₂₈
K ⁺ (ppm)	0	10	20	30	50
Na ⁺ (ppm)	0	10	20	30	50
Ca ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Mg ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Ba ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Al ³⁺ (ppm)	0	10	20	40	50
Fe ³⁺ (ppm)	0	20	60	80	100
Cr ³⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Pb ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Cu ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Zn ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Ni ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Abs _{TB} - Ag	0,3989	0,3993	0,4005	0,4010	0,3987
RSD (%)	1,79	0,61	2,02	1,51	2,04

Kết quả khảo sát cho thấy, sự có mặt đồng thời của các cation ở các khoảng nồng độ đã khảo sát không làm ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag.

2.3.6. Khảo sát ảnh hưởng của các anion

Chúng tôi đã tiến hành nhiều thực nghiệm để khảo sát ảnh hưởng của chúng tới độ hấp thụ quang của Ag. Dung dịch khảo sát là Ag 3 ppm trong HNO₃ 2% và CH₃COONH₄ 1%. Kết quả thực nghiệm được chỉ ra ở bảng 3.14:

Bảng 3.14. Khảo sát ảnh hưởng của các anion

Mẫu	C ₀	C ₂₉	C ₃₀	C ₃₁	C ₃₂
PO ₄ ³⁻ (ppm)	0	20	30	40	50
SO ₄ ²⁻ (pm)	0	20	30	40	50
Ab _{STB} - Ag	0,4001	0,4005	0,3991	0,3989	0,4010
RSD (%)	2,05	1,92	3,07	2,35	0,84

Kết quả khảo sát cho thấy, với sự có mặt của các anion SO₄²⁻, PO₄³⁻ trong dung dịch mẫu phân tích không làm ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag.

2.3.7. Khảo sát ảnh hưởng của tổng các cation và anion

Dung dịch khảo sát là Ag 3 ppm trong HNO₃ 2% và CH₃COONH₄ 1%. Kết quả thực nghiệm được chỉ ra ở bảng 3.15:

Bảng 3.15. Khảo sát ảnh hưởng của tổng cation và anion

Mẫu	C ₀	C ₃₃	C ₃₄	C ₃₅	C ₃₆
K ⁺ (ppm)	0	10	20	30	50
Na ⁺ (ppm)	0	10	20	30	50
Ca ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Mg ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Ba ²⁺ (ppm)	0	10	40	80	100
Al ³⁺ (ppm)	0	10	20	40	50
Fe ³⁺ (ppm)	0	20	60	80	100
Cr ³⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Pb ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Cu ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Zn ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
Ni ²⁺ (ppm)	0	2	4	8	10
PO ₄ ³⁻ (ppm)	0	20	30	40	50

SO_4^{2-} (ppm)	0	20	30	40	50
Abs _{STB} - Ag	0,4111	0,4114	0,4108	0,4109	0,4105
RSD (%)	0,46	1,52	1,36	2,23	1,96

Kết quả khảo sát cho thấy, khi có mặt tổng cation và anion trong dung dịch hầu như không làm ảnh hưởng đến phép đo phổ của Ag, mặc dù nồng độ này đã lớn hơn thực tế nó có trong mẫu phân tích.

3.4. Khảo sát các điều kiện phân huỷ Cloxacilin

3.4.1. Ảnh hưởng của môi trường KOH đến hiệu suất phân huỷ Cloxacilin giải phóng clo

Chúng tôi khảo sát một dãy mẫu có lượng Ag^+ và Cloxacilin đem kết tủa là như nhau, nồng độ KOH làm môi trường cho Cloxacilin phân huỷ thay đổi từ 0,1M ÷ 2M.

Sau khi phân huỷ bằng KOH dung dịch được để nguội ở nhiệt độ phòng, sau đó dùng HNO_3 điều chỉnh môi trường để được pH = 3,8. Tiến hành kết tủa AgCl, ly tâm lọc tách kết tủa, đưa các dung dịch lọc về cùng điều kiện nồng độ HNO_3 trong mẫu là 2% với nền NH_4Ac 1%, đo lượng dư Ag và tính hiệu suất phản ứng. Kết quả thực nghiệm được chỉ ra ở bảng 3.22:

Bảng 3.22. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ KOH

Nồng độ KOH(M)	Hiệu suất (%)
0,1	71,40
0,5	80,36
1,0	89,92
1,5	86,24
2,0	81,56

Từ kết quả cho thấy để đạt được hiệu suất kết tủa cao thì chúng ta phải tiến hành phân huỷ mẫu với nồng độ KOH 1M. Nếu môi trường KOH quá cao thì dẫn tới hiệu suất kết tủa giảm.

3.4.2. Ảnh hưởng của nhiệt độ phân huỷ Cloxacilin đến hiệu suất

Chúng tôi tiến hành đun cách thủy Cloxacilin ở các nhiệt độ khác nhau trong thời gian như nhau là 20 phút. Kết quả khảo sát được trình bày ở bảng 3.23:

Bảng 3.23. Ảnh hưởng của nhiệt độ phân hủy Cloxacilin đến hiệu suất

Nhiệt độ(°C)	Hiệu suất (%)			
	Lần đo 1	Lần đo 2	Lần đo 3	TB
Nhiệt độ phòng 25 ⁰ C	72,84	71,98	72,50	72,44
50 ⁰ C	73,98	74,06	74,22	74,09
60 ⁰ C	79,16	79,26	79,12	79,18
70 ⁰ C	83,90	84,14	84,26	84,10
80⁰C	89,96	90,06	90,10	90,04
90 ⁰ C	87,06	87,22	87,18	87,15
98 ⁰ C	85,74	85,90	86,06	85,90

Theo kết quả đo được, mẫu sau khi đun ở 80⁰ C hiệu suất kết tủa cao nhất. Vậy chúng tôi chọn đun cách thủy ở 80⁰ C để phân hủy Cloxacilin.

3.4.3. Ảnh hưởng của thời gian phân hủy Cloxacilin đến hiệu suất

Chúng tôi khảo sát một dãy mẫu với nồng độ Ag⁺ và Cloxacilin đem kết tủa là như nhau, môi trường KOH là như nhau 1,0M, nhưng thời gian đun để phân hủy Cloxacilin thay đổi từ 5 ÷ 30 phút. Kết quả khảo sát được chỉ ra ở bảng 3.24:

Bảng 3.24. Ảnh hưởng của thời gian phân hủy Cloxacilin đến hiệu suất

Thời gian đun (phút)	Hiệu suất (%)			
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	TB
5	32,70	32,94	33,01	32,88
10	45,32	45,48	45,53	45,44
15	68,36	68,52	68,55	68,48
20	89,76	89,87	89,80	89,81
25	87,15	87,21	87,35	87,24
30	82,19	82,33	82,48	82,33

Kết quả khảo sát ở bảng 3.24 cho thấy, sau khi tiến hành đun ở nhiệt độ 80⁰C với khoảng thời gian là 20 phút thì cho ta hiệu suất kết tủa cao nhất. Vì vậy chúng tôi chọn thời gian đun ở nhiệt độ 80⁰C là 20 phút.

3.4.4. Ảnh hưởng của thời gian đến kết tủa AgCl

Chúng tôi chuẩn bị một dãy mẫu có nồng độ Ag⁺ và Cloxacilin là như nhau, sau khi đã tiến hành phân hủy Cloxacilin trong điều kiện đã nghiên cứu ở trên rồi đưa dung dịch về nhiệt độ phòng và dùng HNO₃ điều chỉnh môi trường để được pH=3,8 rồi tiến hành tạo kết tủa với

Ag^+ , thời gian để tạo kết tủa là khác nhau. Tiến hành kết tủa, ly tâm lọc tách kết tủa, đưa các dung dịch lọc về cùng điều kiện nồng độ HNO_3 trong mẫu là 2% với nền NH_4Ac 1%, đo lượng dư Ag. Kết quả khảo sát được chỉ ra ở bảng 3.25:

Bảng 3.25. Ảnh hưởng của thời gian đến kết tủa AgCl

Thời gian(phút)	Hiệu suất kết tủa(%)
5	40,56
10	70,39
15	89,67
20	80,24
25	60,17
30	57,32

Qua kết quả khảo sát ở bảng 3.25 cho ta thấy để tạo kết tủa AgCl trong thời gian 15 phút là tốt nhất. Vì vậy chúng tôi chọn thời gian để kết tủa AgCl là 15 phút.

3.5. Giới hạn phát hiện

Mỗi nồng độ chúng tôi tiến hành làm 03 mẫu và lấy kết quả là hiệu suất trung bình của 03 lần thí nghiệm. Kết quả được ghi ở bảng 3.26:

Bảng 3.26. Giới hạn phát hiện Cloxacilin

Mẫu số	Cloxacilin(ppm)	Hiệu suất (%)
1	0,08	<1
2	0,09	44,32
3	0,10	60,45
4	0,20	83,21
5	0,30	88,54
6	0,40	90,43
7	0,50	91,12
8	0,60	90,79
9	0,70	91,02
10	0,80	91,09

Từ kết quả trên cho ta thấy giới hạn phát hiện Cloxacilin là 0,08 ppm, tuy nhiên hiệu suất kết tủa thấp. Do đó, định lượng chính xác cloxacilin trong dung dịch mẫu thì nồng độ phải $\geq 0,3$ ppm, vì đạt yêu cầu $\geq 85\%$.

3.6. Kết quả phân tích một số mẫu thực

Kết quả được đưa ra trong bảng 3.29. Kết quả này là kết quả trung bình 8 mẫu, mỗi mẫu đo 3 lần, đã trừ blank

Bảng 3.29. Kết quả xác định lượng Cloxacilin trong mẫu (Đã lấy ở bảng 3.27)

Tên mẫu	\bar{Y}_o	\bar{X}_o	S_{X_o}	$X_o \pm t.S_{X_o}$	$C_{\text{Cloxacilin}}$ (mg/kg)
Mẫu 1	0,2745	1,9941	0,0022	1,9941 ± 0,0056	< LOQ
Mẫu 2	0,2749	1,9971	0,0031	1,9971 ± 0,0079	< LOQ
Mẫu 3	0,2754	2,0001	0,0031	2,0001 ± 0,0079	< LOQ
Mẫu 4	0,2752	1,9993	0,0025	1,9993 ± 0,0065	< LOQ
Mẫu 5	0,2753	2,0000	0,0031	2,0000 ± 0,0079	< LOQ
Mẫu 6	0,2737	1,9882	0,0033	1,9882 ± 0,0086	0,7256
Mẫu 7	0,2750	1,9978	0,0029	1,9978 ± 0,0076	< LOQ
Mẫu 8	0,2740	1,9901	0,0031	1,9901 ± 0,0080	0,3988

Qua kết quả trên cho thấy trong 08 mẫu thực phân tích thì có 02 mẫu là xác định được hàm lượng Cloxacilin còn 06 mẫu thì đều nhỏ hơn giới hạn định lượng. Tuy nhiên trong 02 mẫu xác định được hàm lượng Cloxacilin thì hàm lượng Cloxacilin trong mẫu đều vượt quá giới hạn cho phép của Cloxacilin (theo tiêu chuẩn SanPin).

KẾT LUẬN

Sau quá trình nghiên cứu hoàn thành luận văn thạc sỹ với đề tài “*Xác định gián tiếp Cloxacillin bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (F-AAS)*”, chúng tôi đã thu được một số kết quả như sau:

- Tối ưu hoá các điều kiện xác định Ag bằng phương pháp F-AAS.
- Khảo sát và chọn lọc được môi trường axit và chất cải biến nền thích hợp cho mẫu phân tích.
- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến phép xác định Ag bằng phương pháp F-AAS.
- Xác định khoảng tuyến tính, xây dựng đường chuẩn, xác định giới hạn định lượng, giới hạn phát hiện của Ag bằng phương pháp F-AAS.
- Đánh giá sai số, độ lặp lại của phép đo Ag bằng phương pháp F-AAS.
- Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng đến hiệu suất kết tủa Cloxacilin bằng Ag như: Nồng độ KOH, nhiệt độ kết tủa, các cation, anion có trong mẫu phân tích.
- Xác định giới hạn phát hiện của cloxacilin theo lượng dư Ag.
- Đã đưa ra được quy trình định lượng cloxacilin, trên cơ sở đó chúng tôi tiến hành định lượng cloxacilin trong một số mẫu thực phẩm.

Với kết quả thu được chúng tôi thấy kỹ thuật F-AAS là một kỹ thuật thích hợp để xác định cloxacilin trong mẫu thực phẩm với nhiều ưu điểm: Phân tích nhanh, hàng loạt, độ chính xác tương đối cao, độ lặp lại tốt, ít bị ảnh hưởng bởi thành phần mẫu.

Chúng tôi hy vọng với những nghiên cứu của mình sẽ góp phần vào việc ứng dụng kỹ thuật F-AAS để xác định gián tiếp các hợp chất hữu cơ trong thực phẩm, đặc biệt trong lĩnh vực kiểm tra lượng dư tồn kháng sinh trong thực phẩm.

References

TIẾNG VIỆT

1. Bộ Y Tế (2007), *Hóa dược*, tập 2, NXB Y học, Hà Nội
2. Bộ Y Tế (2002), *Dược điển Việt Nam*, xuất bản lần thứ 3, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội
3. Chu Đình Bình (2003), *Tách và xác định đồng thời Chloramphenicol, Dexamethason axetat và Hydrocortison axetat trong mẫu thuốc bằng phương pháp HPLC*, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học KHTN Hà Nội
4. Cục quản lý Chất lượng Nông lâm sản và Thủy sản, công văn số 571 QLCL-CL1 ngày 14/04/2011, *Tiêu chuẩn SanPiN 2.3.3.1078-01 (2011)*, quy định về lượng dư thuốc thú y
5. Nguyễn Văn Đích (2005), "Không nên lạm dụng kháng sinh", *Báo y học và đời sống*, số 27
6. Đặng Thị Thu Hà (2007), *Nghiên cứu xác định gián tiếp Clo-Tetracyclin trong thực phẩm bằng phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử*, Luận văn thạc sĩ, ĐH Quốc Gia Hà Nội
7. Trần Thị Thu Hằng (2009), *Tách và xác định β -Lactam trong đối tượng sinh học bằng phương pháp điện di mao quản*, luận văn thạc sĩ, ĐH Quốc gia Hà Nội
8. Trần Tứ Hiếu, Từ Vọng Nghi, Nguyễn Văn Ri, Nguyễn Xuân Trung (2003), *Hoá học phân tích – Các phương pháp phân tích công cụ*
9. Phạm Luận (1998), *Cơ sở lý thuyết phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao*, ĐH Quốc gia Hà Nội
10. Ngọc Phương (2006), "Thảm họa lạm dụng kháng sinh cho trẻ", *Báo laodong.com.vn*, 10-10-2006.
11. Phạm Thị Quỳnh Lương (2002), *Nghiên cứu xác định gián tiếp Chloramphenicol trong thuốc bằng phép đo phổ hấp thụ nguyên tử (F-AAS)*, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học KHTN Hà Nội
12. Đàm Thị Minh Tâm (2006), *Tách và xác định hàm lượng các Tetracyclin trong thực phẩm bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao*, Luận văn thạc sĩ, Trường Đại học KHTN Hà Nội

TIẾNG ANH

13. Althea W. McCormick (2003), "Geographic diversity and temporal trends of antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae* in the United States", *Journal Nature medicine*, 9: 424 – 430
14. Attila Gaspar, Melinda Andrasi, Szilvia Kardos (2002), "Application of capillary zone electrophoresis to the analysis and to a stability study of cephalosporins", *Journal of Chromatography B*, 775(2), pp 239-246
15. A. Fernandez-Gonzalez, R. Badia and M.E.Diaz-Gar (2003), "Micelle-mediated spectrofluorimetric determination of ampicillin based on metal ion-catalysed hydrolysis", *Analytica Chimica Acta*, 484(2), pp 239-246
16. Biyang Deng, Aihong Shia, Linqiu Lia and Yanhui Kang (2008), "Pharmacokinetics of amoxicillin in human urine using online coupled capillary electrophoresis with electrogenerated chemiluminescence detection", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(4), 1249-1253
17. D. Hurtaud, Deleeine B; Sanders P. (1994), "Particle beam liquid chromatography-

- mas spectrometry method with negative ion chemical ionization for the confirmation of oxacillin, cloxacillin and dicloxacillin residues in bovine muscle”, *Analyst*, 199(12), 2731-2736
18. Daniela P. Santos, Marcio F. Bergamini and Maria Valnice B. Zanoni (2008), “Voltammetric sensor for amoxicillin determination in human urine using polyglutamic acid/glutaraldehyde film”, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 133(2), pp 398-403
 19. D.P. Raymond (2001), " Impact of a rotating empiric antibiotic schedule on infectious mortality in an intensive care unit", *Journal of Critical Care Medicin*, 29(6):1101-1108
 20. E. Benito-pena, A.I.Partal-Rodera, M.E.Leon-Gonzalez, M.C.Moreno-Bondi (2005), “Evaluation of mixed mode solid phase extraction cartridges for the preconcentration of beta-lactam antibiotics in wastewater using liquid chromatography with UV-DAD detection”, *Analytical Chimica Acta*, 556(2), 415-422
 21. F. Belal, M. M. El-Kerdawy, S. M. El-Ashry and D. R. El-Wasseef (2000), "Kinetic spectrophotometric determination of ampicillin and amoxicillin in dosage forms", *Il Farmaco*, 55(11-12), pp 680-686
 22. J.M. Cha, S. Yang, K.H. Carlson (2006), "Trace determination of β -lactam antibiotics in surface water and urban wastewater using liquid chromatography combined with electrospray tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, 1115(1-2), 46-57
 23. J.O.Boison, and Keng, L.J.Y. (1998), “Multiresidue liquid chromatographic method for determining residues of mono and dibasic penicillins in bovine muscle tissues”, *Journal of AOAC International*, 81(6), 1113-1120
 24. J.O.Boison, and Keng, L.J.Y. (1998), “ Improvement in the Multiresidue liquid chromatographic analysis of residues of mono and dibasic penicillins in bovine muscle tissues”, *Journal of AOAC International*, 81(6), 1267-1272
 25. M.I Bailon-Perez, A.M.Garcia-Campana, C. Cruces-Blanco, M. del Olmo Iruela (2008), "Trace determination of β -lactam antibiotics in environmental aqueous samples using off-line and on-line preconcentration in capillary electrophoresis", *Journal of Chromatography A*, 185(2), pp 273-280
 26. Nigel J.K Simpson (2000), *Solid-phase extraction*, Marcel Dekker, New York
 27. Richard P. Wenzel, M.D Michael B. Edmond, M.D., M.P.H (2000), " Managing Antibiotic Resistance", *New England Journal of Medicine*, 343:1961-1963
 28. WJ Blanchflower, Hewitt SA, Kennedy DG (1994), "Confirmatory assay for the simultaneous detection of five penicillins in muscle, kidney and milk using liquid chromatography - electrospray mass spectrometry", *Analyst*, 119(12), 2595-2601