

ĐỊNH LƯỢNG CHÌ TRONG HẢI SẢN KHÔ BẰNG PHƯƠNG PHÁP HẤP THỤ NGUYÊN TỬ SỬ DỤNG Lò GRAPHITE

DETERMINATION OF LEAD IN SEAFOOD BY GRAPHITE FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY

Nguyễn Mạnh Hà^{1,*}, Phạm Thị Mai Hương¹,
Vũ Thuỳ Trang¹, Hoàng Thị Phương Anh¹,
Nguyễn Thị Toán¹, Đào Văn Bách¹

DOI: <http://doi.org/10.57001/hu1h5804.2025.023>

TÓM TẮT

Hàm lượng chì (Pb) trong một số loại hải sản khô được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử lò graphite (GF-AAS). Phương pháp định lượng có các giá trị sử dụng được xác nhận bao gồm giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (LOQ) lần lượt là 0,0066mg/kg và 0,021mg/kg, độ lệch chuẩn (RSD%) của độ lặp và độ tái lặp đạt lần lượt là 7,86% và 9,99%; độ thu hồi của phương pháp đạt từ 96,19 - 101,71%. Kết quả phân tích chì trong một số mẫu hải sản khô cá bống biển, cá cơm, cá chỉ vàng cho thấy, hàm lượng Pb trong các mẫu có giá trị từ 0,0590 - 0,1291mg/kg, đều nằm dưới ngưỡng quy định theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5649:2006.

Từ khóa: Quang phổ hấp thụ nguyên tử lò graphite (GF-AAS), hải sản, chì, giới hạn phát hiện (MDL).

ABSTRACT

The lead content in seafood (dried shrimp, dried small shrimp) is detected by a graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GF-AAS). The reliability of the quantitative method is determined by the limit of detection (MDL) at 0.0066mg/kg, and the limit of quantification (LOQ) at 0.021mg/kg. The repeatability and the reproducibility (RSD%) are at 7.68% and 9.99%, and the recovery is from 96.19% to 101.71%. The lead content from 0.0590 - 0.1291mg/kg investigated by the GF-AAS is under the required index in Vietnamese National Standards TCVN: 5649-2006.

Keywords: Graphite furnace atomic absorption spectroscopy (GF-AAS), seafood, lead, Method Detection Limit (MDL).

¹Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội

*Email: nguyenmanhha@hau1.edu.vn

Ngày nhận bài: 20/4/2024

Ngày nhận bài sửa sau phản biện: 03/7/2024

Ngày chấp nhận đăng: 26/01/2025

1. MỞ ĐẦU

Độc tính của kim loại chì đối với con người đã được công bố và ghi nhận. Chúng được phân loại vào nhóm 1 - chất gây ung thư đối với con người [1]. Không có khái niệm nồng độ chì trong máu an toàn. Khi đi vào cơ thể, chì đến các cơ quan như não, thận, gan và xương. Chì được tích lũy trong xương có thể đi vào máu trong quá trình mang thai, do đó thai nhi bị phơi nhiễm. Ở mức độ phơi nhiễm cao, chì tấn công vào não và hệ thần kinh trung ương gây hôn mê, co giật và thậm chí tử vong. Trẻ em sống sót sau ngộ độc chì nặng có thể để lại hậu quả chậm phát triển trí tuệ và rối loạn hành vi. Ở mức độ phơi nhiễm thấp hơn, có thể không gây triệu chứng rõ ràng, tương như an toàn, nhưng nó là nguyên nhân của hàng loạt các tổn thương trên nhiều cơ quan trong cơ thể. Đặc biệt chì ảnh hưởng đến sự phát triển não của trẻ em dẫn đến giảm chỉ số thông minh (IQ), thay đổi hành vi như giảm sự tập trung và tăng hành vi chống đối xã hội, giảm trình độ học vấn. Phơi nhiễm chì cũng gây ra thiếu máu, tăng huyết áp, suy thận, suy giảm miễn dịch và ảnh hưởng tới cơ quan sinh sản [1, 2].

Các nguồn gây phơi nhiễm chì là do không khí nhiễm chì có nguồn gốc từ khí thải xăng dầu. Phơi nhiễm từ nghề nghiệp khi con người làm việc với chì trong các mỏ luyện kim, hàn kim loại, sơn,... Ngoài ra, một trong những nguồn gây phơi nhiễm chì có nguồn gốc từ thực phẩm thông qua chuỗi thức ăn. Hàm lượng các chất ô nhiễm tích lũy trong sinh vật thường phản ánh về chất lượng môi trường. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy, cá là một trong số các loài sinh vật được quan tâm nghiên cứu về mức tích lũy các kim loại độc, trong đó có chì. Các kim loại độc có khả năng tích lũy lâu dài trong sinh vật, dẫn đến làm giảm chất lượng thủy sản và có thể gây hại

cho con người thông qua dây chuyền thực phẩm [1, 3]. Nhiều cơ quan quản lý từ các quốc gia khác nhau đã được thành lập để kiểm soát nồng độ tối đa cho phép của kim loại nặng trong thực phẩm như Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), Tổ chức Lương thực và Nông nghiệp Liên Hợp Quốc (FAO); Liên minh Châu Âu (EU). Theo EU và Việt Nam (TCVN 5649:2006) hàm lượng tối đa của chì trong cá khô là 0,5mg/kg.

Trên thị trường hiện nay, có nhiều các loại hải sản tươi sống, khô được bày bán. Nhiều loại không có nguồn gốc, nhãn mác, không có niêm yết hàm lượng chất dinh dưỡng, kim loại nặng trên sản phẩm. Do vậy, việc sử dụng các sản phẩm này gây nguy cơ phơi nhiễm kim loại nặng đối với người tiêu dùng.

Phân tích kim loại nặng có trong thủy hải sản là một trong những phương pháp kiểm nghiệm giúp đảm bảo an toàn, kiểm soát được chất lượng sản phẩm. Các phương pháp được sử dụng phổ biến để phân tích chì như phương pháp hấp thụ nguyên tử dùng lò graphite (GF-AAS) [4-7], phương pháp quang phổ phát xạ Plasma kết hợp cảm ứng (ICP-OES) [8, 9].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã sử dụng phương pháp hấp thụ nguyên tử lò graphite để xác định hàm lượng chì trong các mẫu hải sản khô bao gồm cá bống biển, cá cơm, cá chỉ vàng tại một số chợ trên địa bàn quận Bắc Từ Liêm cùng với việc xác nhận các giá trị sử dụng bao gồm giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ lặp, độ tái lập, độ thu hồi của phương pháp.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

2.1.1. Hóa chất

Dung dịch chuẩn Pb 1000ppm (Merck); NH₄H₂PO₄ ≥ 99% (Merck); HNO₃ ≥ 65% (Merck); HCl ≥ 65%(Merck). Nước deion tại Phòng Thí nghiệm phân tích và ứng dụng, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

Dung dịch chuẩn thứ cấp Pb 10ppm được pha chế như sau: Hút 1mL dung dịch chuẩn chì 1000ppm cho vào bình định mức 100mL rồi dùng HNO₃ 3% định mức đến vạch.

Dung dịch chuẩn thứ cấp Pb 30ppb (µg/L) được pha chế như sau: Hút 0,3mL dung dịch chuẩn thứ cấp Pb 10ppm cho vào bình định mức 100mL rồi dùng HNO₃ 3% định mức đến vạch.

2.1.2. Thiết bị

Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử AAS Shimadzu AA-7000 của Nhật Bản, lò vi sóng phá mẫu Multiwave GO Plus hãng Anton Paar của Áo thuộc Phòng Thí nghiệm phân

tích và ứng dụng, Khoa Công nghệ Hóa, Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội.

2.2. Thu mẫu, xử lý mẫu

2.2.1. Thu mẫu

Mẫu cá bống biển khô, cá cơm khô, cá chỉ vàng khô được thu thập tại chợ đầu mối Minh Khai và chợ Tây Tựu, Bắc Từ Liêm, Hà Nội. Mẫu được cho vào túi nilon kín và mã hóa, mang về phòng thí nghiệm và được bảo quản trong tủ mát trong vòng 24 giờ.

2.2.2. Xử lý mẫu

Mẫu được rửa qua, bỏ đầu, sấy khô, sau đó xay nhỏ và trộn đều. Cân khoảng 0,2g mẫu cho vào ống Teflon, thêm 6ml HNO₃ 65%, 2mL HCl 65% và thực hiện quá trình phân hủy mẫu bằng lò vi sóng. Chương trình nhiệt độ phá mẫu được thực hiện bằng phương pháp có trên máy “ASTM” như sau: 10 phút đầu nhiệt độ tăng dần đến 100°C, duy trì ở nhiệt độ 100°C trong vòng 10 phút, tiếp đó nhiệt độ tiếp tục tăng dần đến 180°C trong 10 phút, duy trì nhiệt độ 180°C trong 10 phút, sau đó để nhiệt độ giảm dần đến khi chương trình phá mẫu kết thúc. Mẫu sau khi để nguội, định mức thành 25mL bằng dung dịch HNO₃ 3%.

2.2.3. Các điều kiện chạy máy quang phổ hấp thụ nguyên tử lò graphite

Việc xác định hàm lượng Pb được thực hiện bằng phương pháp hấp thụ nguyên tử lò graphite. Chất ổn định nền sử dụng là dung dịch NH₄H₂PO₄ 2%. Các thông số cài đặt máy quang phổ hấp thụ nguyên tử để đo chì được lựa chọn như sau:

Vạch phổ đo	283,3nm
Khe đo	0,5 nm
Khí môi trường	Argon
Thể tích nạp mẫu	10µL
Thể tích dung dịch nền NH ₄ H ₂ PO ₄ 2%	10µL

Chương trình nhiệt độ cho lò graphite của chì như trong bảng 1.

Bảng 1. Chương trình nhiệt độ cho lò graphite của chì

Bước	Nhiệt độ (°C)	Thời gian (giây)	Tốc độ dòng khí (L/min)
1	85	5	0,3
2	95	40	0,3
3	120	10	0,3
4	400	5	0,3
5	400	1	0,3
6	400	2	0,0
7	2100	0,9	0,0

8	2100	2	0,0
9	2100	2	0,3

2.3. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

2.3.1. Đường chuẩn định lượng chì

Chuẩn bị 5 nồng độ chuẩn chì khác nhau từ 0,5; 1; 1,5; 3; 5µg/L. Tiến hành chạy mẫu trên hệ thống GF-AAS để xác định độ hấp thụ quang. Xây dựng mối quan hệ phụ thuộc giữa độ hấp thụ quang và nồng độ của chất phân tích.

2.3.2. Chọn mẫu nền

Trong nghiên cứu mẫu nền không chứa chất phân tích được lựa chọn như sau: Cân 0,2g mẫu cho vào ống Teflon, thêm 6ml HNO₃ 65%, 2mL HCl 65% và thực hiện quá trình phân hủy mẫu bằng lò vi sóng theo chương trình "ASTM" (mục 2.2.2). Tiến hành phân tích bằng GF-AAS theo chương trình cài đặt (mục 2.2.3). Từ giá trị độ hấp thụ quang, tính được hàm lượng chì trong mẫu (mg/kg), nếu giá trị này nhỏ hơn nhiều so với giới hạn phát hiện (MDL) dự tính thì chấp nhận mẫu nền không chứa chất phân tích chì.

2.3.3. Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (LOQ)

Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (LOQ) được xác định bằng cách thêm 0,2mL dung dịch chuẩn Pb 30µg/L vào 0,2g nền mẫu chuẩn không có hàm lượng chất phân tích, hàm lượng chì thêm chuẩn vào mẫu tính theo lượng mẫu tương ứng là 0,030mg/kg. Sau đó mẫu được phá trong lò vi sóng theo mục 2.2.2. Tiến hành phân tích trên hệ thống GF-AAS, từ độ hấp thụ quang, tính được hàm lượng chì của 7 mẫu lặp lại thêm chuẩn. MDL và LOQ được xác định theo công thức: MDL = 3,143xSD, LOQ = 10xSD. Trong đó SD là độ lệch chuẩn giá trị hàm lượng chì của 7 mẫu.

2.3.4. Độ lặp và độ tái lặp

Độ lặp, độ tái lặp được xác định bằng cách thêm 0,3 mL dung dịch chuẩn Pb 30µg/L vào 0,2g nền mẫu chuẩn không có hàm lượng chất phân tích, hàm lượng chì thêm chuẩn vào mẫu tính theo lượng mẫu tương ứng là 0,055mg/kg. Sau đó mẫu được phá trong lò vi sóng theo mục 2.2.2. Định lượng chì trong mẫu với 7 thí nghiệm lặp lại đối với mỗi thí nghiệm viên khác nhau (TNV) và trong hai ngày khác nhau. Độ lệch chuẩn được tính và so sánh theo AOAC.

2.3.5. Độ thu hồi

Độ thu hồi được xác định bằng cách thêm chuẩn ở ba nồng độ thấp: 0,25mL, trung bình: 0,4mL và nồng độ cao:

0,5mL dung dịch chuẩn Pb 30µg/L vào 0,2g nền mẫu chuẩn không có hàm lượng chất phân tích, hàm lượng chì thêm chuẩn vào mẫu tính theo lượng mẫu tương ứng là 0,032mg/kg, 0,076mg/kg, 0,220mg/kg. Sau đó mẫu được phá trong lò vi sóng theo mục 2.2.2. Định lượng với 7 thí nghiệm lặp lại. Xác định % thu hồi giữa hàm lượng chì thêm chuẩn theo thực nghiệm và nồng độ chuẩn thêm vào theo lý thuyết.

2.4. Xử lý và đánh giá số liệu

Sử dụng phần mềm Excel để xây dựng khoảng tuyến tính, tính tỉ lệ thu hồi, độ lệch chuẩn. Kết quả các thông số thẩm định phương pháp được đánh giá dựa theo AOAC 2016 [10]. Hàm lượng chì (X) trong mẫu được tính bằng mg/kg theo công thức:

$$X = \frac{a \times V \times 10^{-3}}{m}$$

Trong đó:

- a là hàm lượng chì tính theo đường chuẩn (µg/L);
- V là thể tích dung dịch định mức sau khi phá mẫu (mL);
- m là khối lượng mẫu (g).

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Thẩm định phương pháp định lượng chì

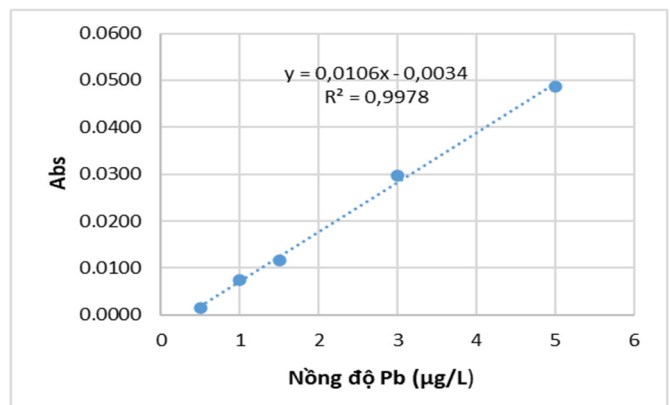
3.1.1. Đường chuẩn định lượng chì

Đường chuẩn định lượng chì được biểu diễn trên hình 1. Từ kết quả cho thấy, phương trình đường chuẩn là:

$y = 0,0106x - 0,0034$ với hệ số độ tương quan tuyến tính $R^2 = 0,9978$.

Trong đó: y là độ hấp thụ quang;

x là nồng độ chất chuẩn của chì.



Hình 1. Đường chuẩn xác định hàm lượng chì

Với hệ số tương quan tuyến tính $0,995 < R^2 = 0,9978 < 1$, cho thấy đường chuẩn đã xây dựng đạt độ tuyến tính cao trong khoảng nồng độ chì từ 0,5 - 5µg/L, hoàn toàn có thể sử dụng để xác định hàm lượng chì.

3.1.2. Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (LOQ)

Giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng MDL, LOQ được trình bày trong bảng 2. Từ kết quả cho thấy, giá trị MDL của phương pháp đạt 0,0066mg/kg, LOQ đạt 0,021mg/kg. Đồng thời, giá trị MDL cũng được đánh giá thông qua độ nhiễu nền (S/N) với kết quả thu được là 10,31. Giá trị này thỏa mãn ($5 < S/N < 20$) theo EPA [11].

Bảng 2. Kết quả MDL, LOQ của phương pháp định lượng chì

Giá trị trung bình Pb trong mẫu (mg/kg)	Nồng độ thêm chuẩn Pb (µg/L)	Độ lệch chuẩn (SD)	MDL (mg/kg)	LOQ (mg/kg)	Độ nhiễu nền (S/N)
KPH	0,55	0,0021	0,0066	0,021	10,31
KPH: Không phát hiện Số thí nghiệm lặp lại 7 lần S/N = Giá trị trung bình của Pb trong mẫu/ Độ lệch chuẩn					

3.1.3. Độ lặp và độ tái lặp

Kết quả độ lặp và độ tái lặp được trình bày ở bảng 3, cho thấy giá trị độ lệch chuẩn tương đối của độ lặp, độ tái lặp lần lượt đạt 7,86% và 9,99%. Các giá trị này đều đạt độ đúng theo AOAC.

Bảng 3. Độ lặp, độ tái lặp của phương pháp định lượng chì

Độ lặp			Độ tái lặp		
Giá trị trung bình hàm lượng Pb trong mẫu ^a (mg/kg)	Nồng độ thêm chuẩn Pb (µg/L)	Độ lệch chuẩn tương đối độ lặp (RSD%)	Giá trị trung bình hàm lượng Pb trong mẫu ^b (mg/kg)	Nồng độ thêm chuẩn Pb (µg/L)	Độ lệch chuẩn tương đối độ tái lặp (RSD%)
KPH	1,0	11,6	KPH	1,0	16,3
KPH: Không phát hiện a. Số thí nghiệm lặp lại 7 lần của 1 thí nghiệm viên trong cùng 1 ngày b. Số thí nghiệm lặp lại 14 lần của 2 thí nghiệm viên trong 2 ngày					

3.1.4. Độ thu hồi

Bảng 4. Kết quả độ thu hồi của phương pháp định lượng chì

Giá trị trung bình hàm lượng Pb trong mẫu nền (mg/kg)	Nồng độ thêm chuẩn Pb (µg/L)	Hiệu suất thu hồi (H%)	Độ lệch chuẩn tương đối (RSD%)
KPH	0,6	96,19	6,45
	1,4	101,71	3,60
	4,0	101,34	4,51
KPH: Không phát hiện Số thí nghiệm lặp lại 7 lần			

Kết quả độ thu hồi được trình bày ở bảng 4 cho thấy, giá trị độ lệch chuẩn tương đối ở nồng độ thêm chuẩn thấp, trung bình, cao, với các giá trị hiệu suất thu hồi đạt từ 96,19 - 101,71%. Do đó, có thể nói phương pháp phân tích đạt độ thu hồi tốt theo AOAC.

3.2. Kết quả phân tích một số mẫu hải sản khô trên thị trường

Sau khi đánh giá phương pháp phân tích, tiến hành định lượng chì trong mẫu cá bống, cá cơm, cá chỉ vàng thu được kết quả trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. Hàm lượng chì trong một số hải sản khô

Kí hiệu mẫu	Hàm lượng Pb (mg/kg)	Kí hiệu mẫu	Hàm lượng Pb (mg/kg)	Kí hiệu mẫu	Hàm lượng Pb (mg/kg)
CBK1	0,0613	CCK1	0,1038	CCVK1	0,0590
CBK2	0,0649	CCK2	0,1162	CCVK2	0,0831
CBK3	0,0666	CCK3	0,1173	CCVK3	0,0932
CBK4	0,0731	CCK4	0,1244	CCVK4	0,0796
CBK5	0,0666	CCK5	0,1291	CCVK5	0,0938
CBK: cá bống biển khô, CCK: cá cơm khô, CCVK: cá chỉ vàng khô.					

Từ kết quả cho thấy, đối với mẫu cá bống khô hàm lượng chì từ 0,0613 - 0,0731mg/kg, trong đó hàm lượng chì trong cá cơm khô từ 0,1038 - 0,1291mg/kg, hàm lượng chì trong cá chỉ vàng khô từ 0,0590 - 0,0938mg/kg. Theo TCVN 5649:2006, hàm lượng chì trong các mẫu đều nằm dưới giới hạn cho phép $\leq 0,5$ mg/kg

4. KẾT LUẬN

Phương pháp hấp thụ nguyên tử lò graphite đã được sử dụng để định lượng Pb trong một số hải sản khô cá bống, cá cơm, cá chỉ vàng tại một số chợ đầu mối quận Bắc Từ Liêm, Hà Nội. Các giá trị sử dụng của phương pháp đã được xác định: giới hạn định lượng (LOQ) là 0,021mg/kg, độ thu hồi đạt từ 96,19 - 101,71%. Hàm lượng Pb trong các mẫu hải sản có giá trị từ 0,059 - 0,1291mg/kg, các giá trị đều nằm dưới giới hạn cho phép theo TCVN 5649:2006.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. Järup L., "Hazards of heavy metal contamination," *Br Med Bull.*, 68:167-182, 2003. doi:10.1093/bmb/ldg032.
[2]. https://moh.gov.vn/web/phong-chong-benh-nghe-nghiep/thong-tin-hoat-dong/-/asset_publisher/xjpQsFUZRw4q/content/ngo-oc-chi-va-suc-khoe?inheritRedirect=false.

[3]. Võ Thành Toàn, Trần Đắc Định, Nguyễn Thị Kim Liên, "Nghiên cứu đặc điểm dinh dưỡng của cá bống dứa phân bố dọc theo sông Hậu," *Tạp chí Khoa học Đại học Cần Thơ*, số thủy sản, 2014.

[4]. A. Detcheva, K.H. Grobecker, "Determination of Hg, Cd, Mn, Pb and Sn in seafood by solid sampling Zeeman atomic absorption spectrometry," *Spectrochimica Acta Part B*, 61, 454-459, 2006.

[5]. Pipat Chootoa, Chalernpol Innuphata, Puchong Wararattanuraka, Chaipat Lapinee, "Cadmium and lead in seafood samples determined by solid phase extraction and graphite furnace atomic absorption spectrometry," *Science Asia*, 41: 35-41, 2015.

[6]. A. K. M. Atique Ullah, M. A. Maksud, S. R. Khan, L. N. Lutfa, Shamshad B. Quraishi, "Development and validation of a GF-AAS method and its application for the trace level determination of Pb, Cd, and Cr in fish feed samples commonly used in the hatcheries of Bangladesh," *Journal of Analytical Science and Technology*, 8, 15, 2017. doi: 10.1186/s40543-017-0124-y.

[7]. Karl Bryan S. Perelonia, Kathlene Cleah D. Benitez, Riza Jane S. Banicod, Gezelle C. Tadifa, Flordeliza D. Cambia, Ulysses M. Montojo, "Validation of an analytical method for the determination of cadmium, lead and mercury in fish and fishery resources by graphite furnace and Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry," *Food Control*, 130, 108363, 2021.

[8]. József Lehel, András Bartha, Dávid Dankó, Katalin Lányi, Péter Laczay, "Heavy metals in seafood purchased from a fishery market in Hungary," *Food Additives & Contaminants: Part B*, 2018. doi: 10.1080/19393210.2018.1505781.

[9]. Elahe Bozorgzadeh, Ardalan Pasdaran, Heshmatollah Ebrahimi-Najafabadi, "Determination of toxic heavy metals in fish samples using dispersive micro solid phase extraction combined with inductively coupled plasma optical emission spectroscopy," *Food Chemistry*, 346, 128916, 2021.

[10]. AOAC, *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 20th Edition. Benjamin Franklin Station, Washington DC., 2016.

[11]. U.S. Environmental Protection Agency, *Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, Revision 2*. Washington DC., 2016.

AUTHORS INFORMATION

**Nguyen Manh Ha, Pham Thi Mai Huong, Vu Thuy Trang,
Hoang Thi Phuong Anh, Nguyen Thi Toan, Dao Van Bach**

Faculty of Chemical Technology, Hanoi University of Industry, Vietnam