

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG LƯU HUỖNH TOÀN PHẦN TRONG NÔNG SẢN VÀ SẢN PHẨM NÔNG SẢN BẰNG PHƯƠNG PHÁP KHÖI PHỔ GHÉP CẢM ỨNG PLASMA CAO TẦN (ICP-MS)

Đến toà soạn 02-07-2024

Phạm Nhất Linh¹, Huỳnh Cẩm Phát¹, Nguyễn Thị Hồng^{1,*}, Đặng Tấn Hiệp^{2,*}

¹Công ty TNHH Dịch vụ Khoa học Công nghệ Khuê Nam

²Trường Đại học Công Thương TPHCM

*Email: khuenamtss@gmail.com; hiepdtd@huit.edu.vn

SUMMARY

DETERMINATION OF TOTAL SULFUR CONTENT IN AGRICULTURAL PRODUCTS BY USING INDUCTIVELY COUPLED PLASMA MASS SPECTROSCOPY METHOD (ICP-MS)

The study presents the development of a process for analyzing sulfur (S) content in agricultural products using Inductive Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS). This method serves to assess the quality of agricultural products. The results of the research indicate that the ICP-MS method can determine sulfur content (S) under optimal analysis conditions, including Helium mode, mass spectrometry 34, internal standard Lu 0.005 ppm. Sample treatment involves acidification with 65% HNO₃ and 30% H₂O₂ in Microwave Prekem M3. The method demonstrates a linear regression coefficient (R^2) greater than 0.99 and repeatability within the range of 1.46-3.92% at the limit of quantification (LOQ) value, reaching 4.89%. The limit of detection (LOD) was found to be 5,65 mg/kg, the LOQ was 18,8 mg/kg, and the measurement uncertainty (U) was $\pm (7,92 - 10,7)\%$.

Keywords: ICP-MS method, sulfur content (S), limit of quantification (LOQ) value, limit of detection (LOD).

1. GIỚI THIỆU

Lưu huỳnh là một trong những nguyên tố chính trong bầu khí quyển, trở thành một phần không thể thiếu của nhiều loại thực phẩm (thịt gia súc, gia cầm, các loài thủy sản, hạt, đậu, trái cây khô...); một trong các loại khoáng chất phong phú nhất trong cơ thể người đặc biệt trong sữa mẹ [1,2]. Trong thực phẩm thường hiện diện dạng các hợp chất lưu huỳnh dễ bay hơi (VSC); những hợp chất này có mùi nồng và góp phần mang lại cảm giác dễ chịu và mùi vị khó chịu trong thực phẩm [1,3]. Từ lâu, các nhà khoa học đã nghiên cứu hợp chất S có trong nhiều loại thực phẩm đặc biệt trong nông sản chứa nhiều hợp chất S, điển hình các hợp chất dị vòng như

thiazole, thiophenes và thiazolines có trong các sản phẩm từ khoai tây, các loại hạt, bông ngô. Thiol béo đã được tìm thấy trong trái cây, rau và các sản phẩm từ sữa. Theo các số liệu đã công bố, có hơn một nửa số hợp chất dễ bay hơi trong tỏi, hành, tỏi tây và họ chứa hợp chất S [1,4].

Trên thế giới hiện nay có một số hợp chất lưu huỳnh được ứng dụng rộng rãi trong các ngành nghề như các hợp chất chứa SO₄²⁻ hoặc hợp chất oxoion lưu huỳnh (IV) đóng vai trò làm chất bảo quản không chỉ áp dụng trong ngành công nghiệp thực phẩm lẫn cả ngành công nghiệp đồ uống [1]; trong quá trình sản xuất rượu vang, các hợp chất SO₃²⁻ làm chất phụ gia giúp khử trùng thùng rượu ở

giai đoạn trước khi lên men và giai đoạn lên men nhằm ngăn quá trình oxy hóa đồng thời giúp duy trì các đặc tính cảm quan mong muốn của rượu trong quá trình sản xuất [1, 5].

Bên cạnh đó, lưu huỳnh cũng đóng vai trò quan trọng trong quá trình trao đổi chất như các acid amin chứa lưu huỳnh (SAA) có vai trò cung cấp protein cho các vận động viên ăn chay, trẻ em và bệnh nhân HIV. Methylsulfonylmethane (MSM), một thành phần dễ bay hơi trong chu trình lưu huỳnh, là một nguồn lưu huỳnh khác được tìm thấy trong chế độ ăn uống của con người có tác dụng điều trị dị ứng, hội chứng đau, chấn thương thể thao. Ngoài ra, một số hợp chất của lưu huỳnh như dimethylsulfoxide (DMSO), taurine và glutathione - những chất chống oxy hóa chính của cơ thể người giúp giảm viêm và ngăn ngừa tổn thương tế bào do quá trình oxy hóa gây ra [2].

SO₂ thường được sử dụng để bảo quản hoa quả sấy khô, làm hạn chế xuất hiện những vết màu nâu trên vỏ của rau quả tươi, như táo, khoai tây. Chất này còn giúp cho thực phẩm nhìn bắt mắt hơn khi có tác dụng chống mốc. Tuy nhiên, SO₂ có thể gây ra những phản ứng bất lợi cho sức khỏe con người như dị ứng, gây tăng tần suất hen phế quản ở những người mắc bệnh hen. SO₂ cũng làm giảm hàm lượng Vitamin B có trong thực phẩm.

Các hợp chất lưu huỳnh thì SO₂, được xác định thông qua việc sử dụng acid chlohydric để chuyển các hợp chất SO₃²⁻ về dạng SO₂, hấp thụ khí SO₂ sinh ra bằng dung dịch hydrogen peroxide, xác định bằng phương pháp chuẩn độ thể tích [8]. Bên cạnh đó, một phương pháp khác cũng khá phổ biến để xác định hàm lượng lưu huỳnh đó là chuyển các hợp chất chứa lưu huỳnh về dạng muối SO₄²⁻, sau đó xác định bằng phương pháp khối lượng [12]. Các phương pháp này có thời gian thực hiện dài

hơn, tiêu tốn nhiều hóa chất, giới hạn định lượng cao. Do vậy, phương pháp nghiên cứu xác định S bằng ICP-MS này vừa có độ chính xác cao, vừa thời gian phân tích ngắn, tiêu tốn ít hóa chất do được thực hiện trong hệ thống kín, tiết kiệm được chi phí, giảm thiểu hóa chất thải ra bên ngoài giảm thiểu ô nhiễm môi trường, bảo vệ sức khỏe người kiểm nghiệm.

2. PHƯƠNG PHÁP THỰC NGHIỆM

2.1 Hóa chất và thiết bị

Hóa chất sử dụng bao gồm acid nitric (Scharlau 65 %), hydrogen peroxide (Sharlau 30 %), natri sulfate (Sharlau).

Chất chuẩn: lưu huỳnh (S) pha từ muối natri sulfate, nội chuẩn Lutetium (Lu), (Sigma).

Thiết bị phân tích: thiết bị khối phổ plasma cảm ứng Aligent 7850 ICP-MS (Mỹ); Hệ thống phá mẫu Microwave Preekem M3 (Trung Quốc).

2.2 Phương pháp phân tích

Xử lý mẫu

Mẫu đã được đồng nhất, được đưa vào ống telfon, acid hóa mẫu bằng cách cho thêm 2-6 mL acid HNO₃ 65 % và 0,5 mL hydrogen peroxide (H₂O₂) 30 %, lắc đều, đậy nắp rồi cho vào máy phá mẫu Microwave Preekem M3, mẫu được phân hủy trong lò vi sóng với chương trình nhiệt độ [6, 11]: 120 °C trong 5 phút, 180 °C trong 5 phút, giữ ở 180 °C trong 30 phút, làm nguội 60 °C phút trong 10 phút, sau đó lấy ra để nguội, chuyển mẫu vào bình định mức 10 mL, định mức tới vạch bằng nước cất, lắc đều. Khảo sát dựa trên hiệu suất thu hồi với lượng acid đưa vào lần lượt là 2, 3, 4, 5 và 6 mL.

Phương pháp khối phổ Plasma (ICP-MS)

Điều kiện vận máy Aligent 7850 ICP-MS: Sử dụng Plasma mode, Nebulizer gas:

1,07 L/phút; Makeup gas: 0 L/phút; Auxiliary Gas: 0,90 L/phút; Plasma gas: 15,0 L/phút; RF Matching: 1,80 V; RF Power 1550 W; Nebulizer Pump: 0,3 rps; Sample Depth: 8,0 mm; S/C Temp: 2 °C; Heli mode; Khối phổ nguyên tử (atomic mass): Lurium (S) là 34 m/z và Lutetium (Lu) là 175 m/z. Số lần lặp: 3 lần; Điểm cài đặt: 1 điểm; Peripump Uptake times: 20 giây; Peripump Stabilization times: 20 giây; Preme Rinse: 20 giây [13].

Phương pháp đánh giá

Khảo sát lượng acid đưa vào quá trình xử lý mẫu, đánh giá dựa trên hiệu suất thu hồi bằng cách thêm chuẩn với nồng độ 40 mg/kg, sau đó acid hóa với lượng tương ứng lần lượt là 2, 3, 4, 5 và 6 mL, thực hiện xử lý mẫu theo mục 2.2.1. Đánh giá tối ưu lượng acid sử dụng thông qua hiệu suất thu hồi.

Thẩm định phương pháp phân tích được thực hiện theo tài liệu hướng dẫn Thẩm định phương pháp trong phân tích [7], kết quả được so sánh với tiêu chuẩn quy định bởi AOAC (Appendix F) [9] và, bao gồm: đường chuẩn, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), hiệu suất thu hồi (H %), độ lặp lại (RSDr %).

Tiến hành xây dựng khoảng tuyến tính của lurium ở các mức nồng độ trải dài từ thấp đến cao 0,02 - 10 mg/L, đánh giá hệ số hồi quy tương quan. Từ khoảng tuyến tính lựa chọn dãy chuẩn phù hợp, xây dựng đường chuẩn và đánh giá thông qua hệ số hồi quy tương quan và độ lệch điểm chuẩn. Tiến hành phân tích lurium trên các nền mẫu nông sản và sản phẩm nông sản (rau xà lách, mít sấy, nước ép dưa hấu, thanh gạo lứt). Các nền mẫu nghiên cứu đều được xử lý trong môi trường acid với tỷ lệ ($\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2 = 4/1$). Nồng độ chất phân tích được định lượng bằng phương pháp đường chuẩn sử dụng chất nội chuẩn Lutetium (Lu) [7].

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp được xác định như sau: Đối với các nền mẫu nghiên cứu (nông sản và sản phẩm nông sản), tiến hành phân tích lặp lại 3 lần mỗi nền mẫu (mít sấy, thanh gạo lứt, rau xà lách và nước ép dưa hấu), các mẫu có nguồn gốc từ mẫu dịch vụ tại công ty hoặc mua tại siêu thị, cho kết quả không phát hiện lurium khi phân tích theo quy trình. Tiến hành thêm chuẩn ở nồng độ 40 mg/kg, sau đó xác định giá trị độ lệch chuẩn của phép đo (SD). Giá trị LOD được tính theo công thức:

$$\text{LOD} = 3\text{SD} \text{ và } \text{LOQ} = 10\text{SD} \text{ (Eq1)}$$

Xây dựng đường chuẩn (hồi quy tuyến tính) theo phương pháp bình phương tối thiểu, có dạng:

$$\text{CPS} = a + bC_A \text{ (Eq2)}$$

Trong đó: C_A là nồng độ của chất phân tích; CPS là cường độ ion [9].

Giới hạn chấp nhận của đường chuẩn được đánh giá thông qua hai thông số là: hệ số hồi quy tương quan R^2 và độ lệch $\Delta\%$ của từng điểm chuẩn (tính lại nồng độ từng điểm chuẩn đã pha dựa vào đường chuẩn đã xây dựng). Hệ số hồi quy tương quan được chấp nhận khi $0,99 \leq R^2 \leq 1$, và độ lệch được chấp nhận khi $< 10\%$.

Độ chính xác của quy trình phân tích sẽ được đánh giá dựa trên độ đúng và độ lặp lại của phương pháp. Ở nghiên cứu này, độ đúng và độ lặp lại của phương pháp được đánh giá qua độ thu hồi khi phân tích lặp lại 3 lần mẫu nền (mít sấy, thanh gạo lứt, rau xà lách và nước ép dưa hấu) đã được thêm chuẩn 40 mg/kg. Độ thu hồi (Rev) và độ lệch chuẩn tương đối (RSDr) được tính theo công thức:

$$\text{Rev}\% = \frac{(C_{m+c} - C_m)}{C_C} \times 100 \text{ (Eq3)}$$

$$\text{SD} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \text{ (Eq4)}$$

$$RSD_r = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100 \quad (Eq5)$$

Trong đó: C_{m+c} là nồng độ lưu huỳnh nghiên cứu trong mẫu thêm chuẩn; C_m là nồng độ lưu huỳnh nghiên cứu trong mẫu; C_c là nồng độ lưu huỳnh nghiên cứu thêm chuẩn vào mẫu nền; SD : Độ lệch chuẩn của mẫu; $\bar{X}$: Trung bình của mẫu.

T đó, xác định độ lệch chuẩn tương đối (RSD_r %) của phép phân tích trên từng nền mẫu, giá trị này thể hiện độ lặp lại của phương pháp. Độ thu hồi chấp nhận trong khoảng từ 80 - 110 % và độ lặp lại $RSD_r < 7,3$ % [9].

Độ không đảm bảo đo

Sử dụng phương pháp xác định từng thành phần [14] để xác định độ không đảm bảo đo với hệ số phủ = 2 xác định theo theo công thức.

$$U_K = k * U_C = 2 \times U_C \quad (Eq6)$$

Trong đó: U_C được tính theo công thức

$$u_c(y) = y \cdot \sqrt{\left(\frac{u_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(H)}{H}\right)^2 + (S_R)^2} \quad (Eq7)$$

$u_c(y)$: Độ không đảm bảo đo tổng hợp

u_m : độ không đảm bảo đo của phép cân

$u(H)$: Độ không đảm bảo đo độ thu hồi

m : khối lượng mẫu

H : hiệu suất thu hồi

S_R : độ tái lập

Công thức tính toán

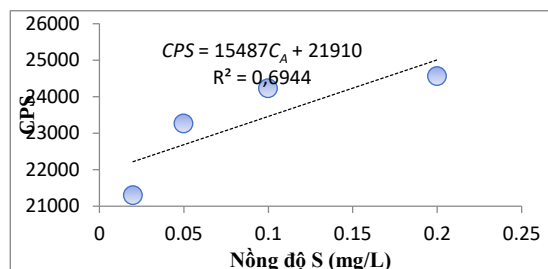
Hàm lượng Lưu huỳnh (S) trong mẫu được tính theo công thức như sau [6]

$$C = \frac{(C_{do} - C_b) \times V_{dm}}{m_{mẫu}} \times f \quad [Eq8]$$

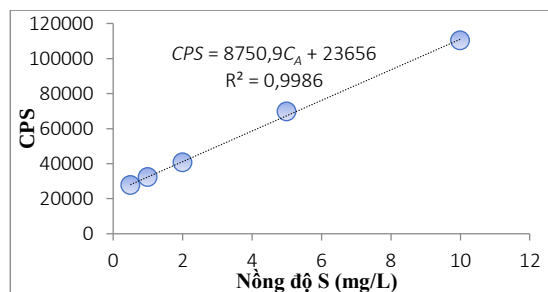
Trong đó C là nồng độ lưu huỳnh trong mẫu (mg/kg); C_{do} là nồng độ lưu huỳnh tính từ đường chuẩn (mg/L); C_b là nồng độ lưu huỳnh từ mẫu trắng (mg/L); f là hệ số pha loãng; $m_{mẫu}$ là khối lượng mẫu (g).

4. KẾT QUẢ THỰC NGHIỆM

4.1 Đường chuẩn của lưu huỳnh (S) nghiên cứu



Hình 1 Đường chuẩn của hàm lượng S (0,02 - 0,2 mg/L)



Hình 2 Đường chuẩn của hàm lượng S (0,5 - 10,0 mg/L)

Hình 1 cho thấy, khoảng nồng độ thấp (0,05-0,25) (mg/L) chưa tuyến tính nên không được sử dụng để thẩm định. Đối với hình 2, đường chuẩn từ các điểm chuẩn với nồng độ 0,5 - 10,0 mg/L, có phương trình đường chuẩn: $CPS = 8750,9C_A + 23656$ với hệ số tương quan $R^2 > 0,99$; độ chệch điểm chuẩn $\Delta < 10\%$.

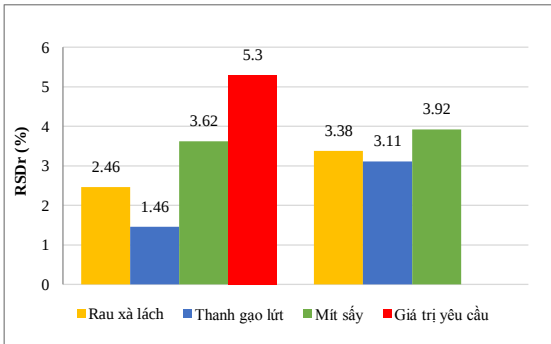
4.2 Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Thực hiện thêm chuẩn S ở nồng độ 40 mg/kg trên mẫu rau xà lách không chứa lưu huỳnh. Xử lý mẫu theo quy trình và thực hiện lặp 12 lần để xác định giá trị LOD và LOQ dựa trên độ lệch chuẩn (SD) theo các phương trình Eq1 và Eq4.

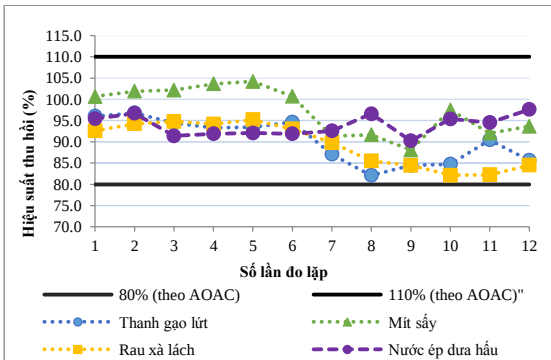
Kết quả thu được: LOD = 5,16 mg/kg và LOQ = 17,2 mg/kg.

4.3 Độ lặp lại (RSD_r %) và hiệu suất thu hồi (H %)

Độ đúng (đánh giá qua hiệu suất thu hồi mẫu thêm chuẩn) và độ lặp lại (đánh giá qua RSD_r) của phương pháp phân tích từ 1,46 – 3,92 (%) được trình bày Hình 3.



Hình 3 Độ lặp lại của rau xà lách, thanh gao lứt và mít sấy



Hình 4: Hiệu suất thu hồi của từng nền mẫu

Kết quả cho thấy phương pháp đạt được độ đúng và độ lặp lại rất tốt đối với S trên đa dạng các nền mẫu thanh gao lứt, rau xà lách, mít sấy và nước ép dưa hấu, thêm chuẩn ở mức nồng độ 40 mg/kg. Hiệu suất thu hồi đạt 92 - 101% và độ lặp lại RSD_r (1,46 - 3,92%) < 7,3%, đáp ứng yêu cầu quy định [9]. Đồng thời, không có sự khác biệt thống kê ($p > 0,05$) về các giá trị độ đúng và độ lặp lại giữa các chất hay giữa các nền mẫu khác nhau. Điều đó chứng tỏ khả năng ứng dụng rộng rãi của của phương pháp phân tích này cho đa dạng các nền mẫu nghiên cứu.

4.4 Độ không đảm bảo đo

Bảng 1. Độ không đảm bảo đo của từng nền mẫu

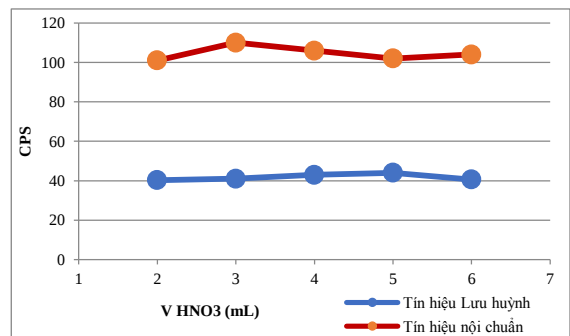
Nền mẫu	Độ không đảm bảo đo mở rộng	Đơn vị
Thanh gao lứt	10,7	%
Mít sấy	9,79	%
Rau xà lách	9,53	%
Nước ép dưa hấu	7,92	%

Độ không đảm bảo đo trong khoảng 7,92-10,7 (%) đánh giá độ ổn định của phương pháp là tin cậy.

4.5 Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng

4.5.1 Thể tích acid khi xử lý mẫu

Ảnh hưởng đến tuổi thọ của thiết bị, hiệu suất phân hủy mẫu, áp suất trong ống phân hủy, khả năng phun sương, hóa hơi và ion hóa của mẫu khi có sự chênh lệch về thể tích acid sử dụng trong quá trình xử lý mẫu. Kết quả thực nghiệm cho thấy khi sử dụng thể tích acid ở các mức khác nhau: 2 - 6 mL acid HNO_3 65 % thì tín hiệu chất phân tích và tín hiệu nội chuẩn ổn định không ảnh hưởng nhiều $RSD < 5$ % như Hình 5.



Hình 5. Ảnh hưởng của thể tích

Lượng acid sử dụng trong quá trình xử lý mẫu không ảnh hưởng đến độ đúng của kết quả thử nghiệm. Tuy nhiên, lượng acid phải đủ phân hủy được mẫu nhưng không được quá nhiều sẽ gây ra các ảnh hưởng như đã nêu ở trên. Vì vậy, lượng acid 2-3 mL là tối ưu cho nghiên cứu này.

4.5.2 Khảo sát sự cân nhiễu của khối phổ

Bảng 2. Cân nhiễu ion quang phổ khi lựa chọn mass 34 m/z

Nguyên tố lưu huỳnh (S)				
Mass	32	33	34	36
Đồng vị (%)	94,99	0,75	4,25	0,01
Ar				0,334
OO	99,515	0,076	0,409	
Ni ⁺⁺	0,926			
Zn ⁺⁺	49,17	27,73	18,45	
Ge ⁺⁺				27,45
HCl				75,751
PH	99,989	0,012		
SH		99,979	0,761	
ClH				75,751
NO	0,204	0,001		
FO				0,038
NeO				90,26

Xét các cân nhiễu về điện tích 2+, cân nhiễu do sự chồng lấp quang phổ từ các phân tử đa nguyên tố, thấy rằng tỷ lệ % các cân nhiễu này thấp khi lựa chọn khối phổ của lưu huỳnh là 34 m/z và với hệ ICP-MS 7850 đang sử dụng trong nghiên cứu này có buồng phản ứng va chạm loại nền bằng khí Helium thì ảnh hưởng của các cân nhiễu nói trên không đáng kể thể hiện chi tiết trong Bảng 3.

4.6 Ứng dụng phương pháp nghiên cứu đã thẩm định

Sử dụng phương pháp thẩm định để thực hiện phân tích mẫu ớt chuông, chanh dây và hạt thanh long, mẫu do khách hàng gửi đến phòng thí nghiệm. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Hàm lượng lưu huỳnh trên các nền mẫu

Tên mẫu thử	Hàm lượng trung bình (mg/kg)	RSDr (%)	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Ớt chuông	137	1,88	5,65	18,8
Chanh dây	186	1,08	3,23	10,8
Hạt thanh long	616	0,59	1,76	5,90

5. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được phương pháp ICP-MS phù hợp để xác định hàm lượng lưu huỳnh (S) toàn phần được trong nông sản và sản phẩm nông sản vừa nhanh vừa có độ chính xác cao, giới hạn định lượng đáp ứng được cả hai mục đích tồn tại của lưu huỳnh. Kết quả nghiên cứu thu được giới hạn phát hiện (LOD) là 1,76 mg/kg và giới hạn định lượng LOQ là 18,80 mg/kg; các thông số được đánh giá như độ lặp lại, hiệu suất thu hồi đáp ứng yêu cầu theo 80-110 %.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D. Dordevic, J. Capikova, S. Dordevic, B. Tremlov, M. Gajdacs, I. Kushkevych, Sulfur content in foods and beverages and its role in human and animal metabolism: A scoping review of recent studies, *Heliyon* 9, 2023.
- [2] S. Parcell, Sulfur in human nutrition and applications in medicine, *Altern Med. Rev*, 2002, 7(1), 22-44.
- [3] M. L. Shankaranarayana, B. Raghavan, K. O. Abraham, C. P. Natarajan, H. H. Brodnitz, Volatile sulfur compounds in food flavors, *CRC Crit. Rev. Food Technol* 4, 1974, 395-435.
- [4] C. J. Mussinan, M. E. Keelan (Eds.), Sulfur Compounds in Foods, *Am. Chem. Soc*, Washington, DC, 1994.
- [5] H. Vally, P. Thompson, Allergic and asthmatic reactions to alcoholic drinks, *Addict Biol*, 2003, 8, 3-11.
- [6] W. Horwitz, G. W. Latimer. AOAC Official Method 999.10 Lead, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron in Foods. Official Methods of Analysis, 22nd, 2023.
- [7] Thẩm định phương pháp trong phân tích. Viện kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia. Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật Hà Nội.
- [8] W. Horwitz, G. W. Latimer. AOAC Official Method 923.01 Sulfur in Plants. Official Methods of Analysis, 22nd, 2023.

- [9] Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. AOAC Official Methods of Analysis. 2016.
- [10] R. Thomas, Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, Second Edition.
- [11] W. Horwitz, G. W. Latimer. AOAC 2015.01 Heavy Metals in Food. Official Methods of Analysis, 22nd, 2023.
- [12] Tiêu chuẩn quốc gia TCVN 9519-1:2012 (EN 1988-1:1998) về Thực phẩm - Xác định sulfit - Phần 1: Phương pháp Monier-Williams đã được tối ưu hóa
- [13] Instruction manual ICP-MS (July 2022 Revision A G8400-90015 Copyright © Agilent Technologies, Inc. 2022).
- [14] Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement QUAM:2012 P1, 3th Edition.