XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG KẼM TRONG MỘT SỐ LOÀI CÁ Ở KHU VỰC SÔNG GIANH HUYỆN QUẢNG TRẠCH TỈNH QUẢNG BÌNH BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ

Đến tòa soạn 19-11-2019

Nguyễn Mậu Thành, Ngô Thị Thuỳ Linh
Trường Đại học Quảng Bình

SUMMARY

DETERMINATION OF ZINC CONTENT IN SOME FISH SPECIES IN GIANH RIVER AT QUANG TRACH DISTRICT, QUANG BINH PROVINCE BY ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETY

The flame atomic absorption spectrometry (F-AAS) has been applied to determine the zinc content in some fish species, in Gianh river at Quang Trach distric Quang Binh province. This method has high repeatability with relative standard deviation (RSD) < 2.0%, the recovery from 95 to 105 %, low limit of detection (LOD) = 0.06 ppm and limit of quantization (LOQ) = 0.20 ppm. The concentration of zinc has a good linear correlation in the concentration of 0,005 ÷ 1 ppm. Results obtained shows that the average zinc contents in the fish species were in the range of 3.803 ÷ 9.000 mg/kg wet weight and within the allowed limits according to the regulation No.46/2007/QĐ-BYT.
Keywords: *Gianh river, some fish species, zinc, AAS method*

1. MỞ ĐẦU

Sông Gianh là con sông chảy trên địa phận tỉnh Quảng Bình, bắt nguồn từ khu vực ven núi Cô Pi cao 2017 mét thuộc dãy Trường Sơn, chảy qua các huyện Minh Hóa, Tuyên Hoá, Quảng Trạch, Ba Đồn, Bố Trạch, để đổ ra biển Đông ở Cửa Gianh. Đây là con sông lớn nhất trong số 5 con sông của tỉnh, có giá trị lớn về mặt kinh tế xã hội cho tỉnh. Song song với việc khai thác những tiềm năng từ dòng sông Gianh thì vấn đề môi trường ở đây cũng cần được quan tâm. Đặc biệt, hệ thống sông Gianh tiếp nhận nước thải sinh hoạt, nông nghiệp và công nghiệp đang hoạt động như: Nhà máy xi măng Sông Gianh, nhà máy xi măng Văn Hoá, nhà máy gạch - ngói tuynel, nhà máy phân lân vi sinh Sông Gianh, nhà máy khai thác đất cao lanh,…, đe doạ gây ô nhiễm nguồn nước của sông. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng, 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, trong đó có kẽm [12].

Phương pháp phân tích quang phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa (F-AAS) được nhiều quốc gia trên thế giới thừa nhận là một phương pháp chuẩn, đã và đang được ứng dụng rộng rãi để xác định hàm lượng vết các kim loại (trong đó có Zn) ở các đối tượng mẫu môi trường khác nhau như: nước, trầm tích, sinh vật... [2].Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào về xác định hàm lượng Zn trong các loài cá ở sông Gianh. Vì vậy, trong bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả

nghiên cứu xác định hàm lượng Zn trong thịt một số loài cá ở khu vực sông Gianh chảy qua địa phận huyện Quảng Trạnh, tỉnh Quảng Bình bằng phương pháp F-AAS.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị, dụng cụ, hóa chất

Các ống nghiệm, cốc thủy tinh chịu nhiệt, bình định mức; cân phân tích, bếp điện, máy xay mẫu chuyên dụng, bộ dao mổ y tế làm bằng inox được dùng để tách thịt ra khỏi xương cá; các micropipette và pipete (Eppendorf). Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử Zeenit 700P của hãng Analytika Jena (Đức).

Các hóa chất sử dụng đều là loại tinh khiết (PA) của hãng Merck (Đức): Dung dịch chuẩn gốc kẽm (1000 ± 2 ppm) chuyên dùng cho phép đo AAS, axit HNO_3 65% và $Mg(NO_3)_2$ ... Nước để pha chế hóa chất và rửa dụng cụ là nước cất hai lần.

2.2. Lấy mẫu, xử lý mẫu

Các mẫu cá được thu thập bằng cách dùng các ngư cụ đánh bắt (lưới, chèo, chài, vợt,...) tại nhiều địa điểm trên sông Gianh chảy qua địa phận huyện Quảng Trạch (đoạn từ thôn Phù Ninh xã Quảnh Thanh đến tổ dân phố Nam phường Quảng Thuận với chiều dài khoảng 14,5 km), vào 2 đợt (đợt 1: 16 ÷ 18/8/2019; đợt 2: 19 ÷ 21/10/2019). Mỗi đợt gồm 6 mẫu được phân loại theo kích cỡ từ nhỏ đến lớn theo chiều dài của các loài cá, mỗi mẫu gồm 5 ÷ 12 cá thể tùy theo loài và các mẫu thu được là mẫu tổ hợp.

Đặc tính và ký hiệu các mẫu cá: Cá đục *(Sillaginidae)* nước ngọt, sống ở tầng đáy, thường ăn nhiều loại giun nhiều tơ và động vật giáp xác, ký hiệu là CĐi; Cá bống (*Gobiodei)* sống ở tầng đáy, thiên ăn những động vật chủ yếu là giáp xác, cá nhỏ và động vật thủy sinh ở tầng đáy, ký kiệu là CBi; Cá hanh *(Tinca tinca)* chủ yếu kiếm ăn ban đêm với thức ăn là tảo và nhiều chủng loại động vật không xương sống ở tầng đáy mà nó có thể tự kiếm được, ký hiệu là CHi; Cá móm *(Gerreidae)* sống thành từng đàn, len lỏi kiếm ăn chủ yếu ở tầng trung và đáy, được ký hiệu là CMi; Cá nâu *(Scatophagus argus)* thường sống ở độ sâu 1 ÷ 4 m nước, cá ăn tạp thiên về thực vật, thức ăn bao gồm rong tảo, rau xanh, côn trùng, giáp xác và thức ăn viên, ký hiệu là CNi; Cá bơn *(Soleidae)* thân bẹt sống ở tầng nước đáy thức ăn của chúng là các loài động vật giáp xác nhỏ và các loài động vật không xương sống, ký hiệu là Cbi ; trong đó: i = 1 ÷ 2 (thứ tự đợt lấy mẫu).

Mẫu cá được chuyển ngay về phòng thí nghiệm sau khi thu được. Mẫu được xử lý sơ bộ trước khi tiến hành phân tích: Rửa sạch bằng nước cất nhiều lần, sau đó dùng dao inox tách lấy phần thịt. Tiến hành phân hủy mẫu theo phương pháp tro hóa khô [3, 4, 6]: Phần thịt cá được xay nhuyễn, rồi được vô cơ hóa như sau: Đưa lên trên cân phân tích một lượng mẫu chính xác (lượng cân dao động trong khoảng 3 ÷ 5 gam); cho vào cốc nung có nắp, thêm 5 mL HNO_3 65% và 5 mL $Mg(NO_3)_2$ 5%; khuấy đều rồi đun nhẹ trên bếp điện đến than đen. Chuyển cốc nung chứa mẫu vào lò nung, nung ở nhiệt độ 450^0C trong vòng 8 giờ; lấy mẫu ra khỏi lò, để nguội và thấm ướt tro bằng một ít nước cất và lặp lại quá trình trên đến khi thu được tro trắng [4]. Chuyển mẫu sang cốc thủy tinh bằng HNO_3 2 M, đun đến cạn để đuổi hết lượng axit dư. Dùng 1 mL HNO_3 0,5 M để hòa tan mẫu và chuyển định lượng vào bình định mức dung tích 50 mL, định mức bằng nước cất, được dung dịch phân tích [3, 5, 8, 9].

2.3. Phương pháp phân tích

Để xác định Zn trong mẫu thịt cá, áp dụng phương pháp F-AAS và chấp nhận những điều kiện hoạt động của thiết bị đã được công bố ở [2] (Bảng 1).

Bảng 1: Điều kiện hoạt động của phương pháp F-AAS xác định Zn

Thông số	Zn
λ (nm)	213,9
Khe đo (mm)	0,5
Chiều cao buner	6
Cường độ đèn (mA)	4,0
Hỗn hợp khí đốt	C_2H_2- KK
Kiểu đèn	Catot rỗng kẽm
Thời gian chờ (s)	5
Thời gian đo (s)	3

Hàm lượng Zn trong các mẫu được định lượng theo phương pháp đường chuẩn: phương trình đường chuẩn có dạng y = a + bx, trong đó a là đoạn cắt trên trục tung và b là độ dốc, y và x tương ứng là độ hấp thụ quang và nồng độ của Zn trong dung dịch phân tích. Trường hợp độ hấp thụ quang của mẫu lớn hơn điểm cực đại của đường chuẩn, cần pha loãng mẫu với hệ số pha loãng phù hợp để đưa đô hấp thụ quang của mẫu vào vùng đường chuẩn (hay khoảng tuyến tính). Hàm lượng Zn trong mẫu được tính theo khối lượng tươi mg/kg hay ppm, theo công thức [5]: $C = \frac{([C]_2 - [C]_1)d_f \times 50}{m}$, trong đó, $[C]_2$ là nồng độ Zn trong dung dịch phân tích; $[C]_1$ là nồng độ trung bình của Zn trong dung dịch mẫu trắng; d_f là hệ số pha loãng; m là khối lượng của mẫu phân tích.

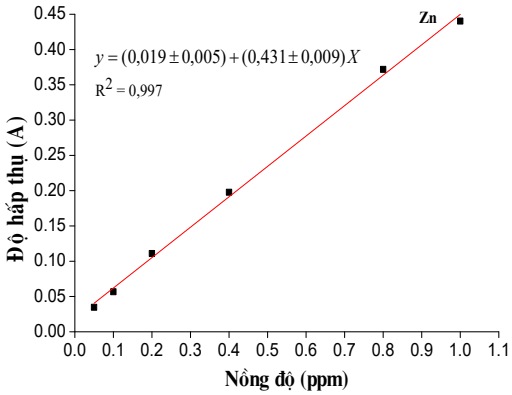
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Để khảo sát khoảng tuyến tính, tiến hành đo độ hấp thụ quang của các dung dịch chuẩn Zn, rồi xây dựng đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ quang (A) và nồng độ dung dịch chuẩn (C), theo nguyên tắc của phương pháp bình phương tối thiểu, sử dụng công cụ Data Analysis của phần mềm Microsoft - Excel 2013 và phần mềm Origin 8.5. Kết quả ở Bảng 2 và Hình1 cho thấy: Phương trình có dạng: y = (0,019 ± 0,005) + (0,431 ± 0,009) x, với y là độ hấp thụ quang và x là hàm lượng Zn (ppm). Trong khoảng nồng độ C = 0,005 ÷ 1 ppm, giữa y và x có tương quan tuyến tính tốt với R^2 = 0,997.

Bảng 2: Kết quả xác định độ hấp thụ quang của các dung dịch chuẩn Zn

Nồng độ Zn (ppm)	0,005	0,1	0,2	0,4	0,8	1
Độ hấp thụ quang (A)	0,0348	0,0567	0,1109	0,1978	0,3719	0,4403



Hình 1. Đường chuẩn xác định Zn

3.2. Độ lặp lại của phương pháp

Tiến hành phân tích Zn trong sáu mẫu thịt cá lấy ở đợt một, mỗi mẫu được phân tích lặp lại 3 lần (n = 3), thu được kết quả ở Bảng 3.

Bảng 3: Kết quả xác định độ lặp lại của phương pháp F-AAS xác định Zn trong các mẫu thịt cá [(a)]

Mẫu	Hàm lượng, ppm					½ RSD_H (%)
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Trung bình ± SD	RSD (%)	
$CĐ_1$	5,576	5,468	5,685	5,576 ± 0,109	1,9	6,2
CB_1	7,452	7,348	7,462	7,421 ± 0,063	0,9	5,9
CH_1	3,868	3,759	3,856	3,828 ± 0,060	1,6	6,5
CM_1	8,183	8,267	8,095	8,182 ± 0,086	1,1	5,8
CN_1	9,000	8,896	9,117	9,004 ± 0,111	1,2	5,7
Cb_1	8,238	8,074	8,401	8,238 ± 0,164	2,0	5,8

[(a)] SD: Độ lệch chuẩn (n = 3); RSD: Độ lệch chuẩn tương đối (n = 3); RSD_H: Độ lệch chuẩn tương đối tính theo phương trình Horwitz [11].

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, phương pháp F-AAS đạt được độ lặp lại tốt với RSD < 2,0%. Người ta cho rằng, khi xác định những nồng độ C bất kỳ, nếu đạt được RSD không vượt quá ½ RSD_H là đạt yêu cầu (RSD_H là độ lệch chuẩn tương đối tính toán được từ phương trình Horwitz: $RSD_H = 2^{1-0,5\lg C}$ với C là nồng độ được biểu diễn bằng phân số [12]).

3.3. Độ đúng của phương pháp

Độ đúng của phương pháp phân tích bất kỳ được xác định thông qua độ thu hồi (Recovery) theo công thức [11]: $\mathrm{Re}v(\%) = \frac{C_2 - C_1}{C_o} \times 100$. Trong đó, C_0 là nồng độ chất phân tích được thêm vào mẫu; C_1 là nồng độ chất phân tích trong mẫu; C_2 là nồng độ chất phân tích trong mẫu đã được thêm chuẩn. Độ đúng của phương pháp F-AAS xác định Zn trong sáu mẫu thịt cá lựa chọn được ở Bảng 4.

Bảng 4: Kết quả đánh giá độ đúng của phương pháp F-AAS xác định Zn trong mẫu thịt cá

Mẫu	*Nồng độ Zn trong mẫu (ppm)*	*Nồng độ Zn thêm vào mẫu (ppm)*	*Nồng độ Zn sau khi thêm vào mẫu (ppm)*	Độ thu hồi *(Rev, %)*
$CĐ_1$	5,576	*10*	15,197	96
CB_1	7,452	*10*	16,995	95
CH_1	3,868	*10*	13,496	96
CM_1	8,183	*10*	18,714	105
CN_1	9,000	*10*	19,397	104
Cb_1	8,238	*10*	18,006	98

Từ kết quả ở Bảng 4 cho thấy, phương pháp đạt được độ đúng tốt với độ thu hồi từ 95 ÷ 105%.

3.4. Giới hạn pháp hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Giới hạn phát hiện (LOD) của phương pháp phân tích được xác định theo quy tắc "3σ" [11]. Theo quy tắc này, giới hạn phát hiện được tính như sau: $y = y_b + 3\sigma$ hay $y = y_b + 3S_b$, trong đó, y là tín hiệu ứng với giới hạn phát hiện. Biết tín hiệu y sẽ tính được giới hạn phát hiện từ phương trình đường chuẩn $y = a + bC$, do đó $LOD = (y - a)/b$; y_b là tín hiệu mẫu trắng; σ_b (hoặc S_b) là độ lệch chuẩn của tín hiệu mẫu trắng. Có thể xác định y_b và S_b như sau: tiến hành thí nghiệm để thiết lập phương trình đường chuẩn $y = a + bC$. Từ đó xác định y_b và S_b bằng cách chấp nhận y_b là giá trị của y khi C = 0, suy ra $y_b = a$ và $S_b = S_y$ (độ lệch chuẩn của tín hiệu đo – độ hấp thụ quang) với S_y được tính theo công thức sau [11]: $S_b = S_y = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (y_i - Y_i)^2}{n-2}}$; Ở đây, y_i là giá trị thực nghiệm của y và Y_i là các giá trị tính từ phương trình đường chuẩn. Từ phương trình đường chuẩn, biến đổi sẽ tính được LOD theo công thức sau: $LOD = 3S_y/b$. Với b là độ dốc của đường chuẩn.

Giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp phân tích được tính theo công thức sau: $LOQ = 10S_y/b \approx 3,3\ LOD$. Kết quả tính toán LOD và LOQ của phương pháp được trình bày ở Bảng 5.

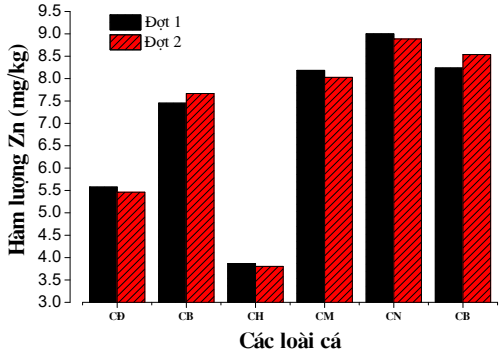
Bảng 5. Các giá trị a, b, S_y, LOD, LOQ tính từ phương trình đường chuẩn y = a + bx

Các giá trị / Kim loại	b	a	S_y	R	LOD (ppm)	LOQ (ppm)
Zn	0,431 ± 0,009	0,019 ± 0,005	0,009	0,999	0,06	0,20

Kết quả cho thấy, phương pháp F-AAS đạt được LOD khá thấp đối với Zn (0,06 ppm). Từ đó xác định được LOQ là 0,20 ppm. Kết hợp với các kết quả xây dựng đường chuẩn ở trên (mục 3.1), có thể cho rằng, đường chuẩn phù hợp để định lượng Zn trong các mẫu cá khảo sát.

3.5. Hàm lượng kẽm trong thịt một số loài cá

Các kết quả về hàm lượng Zn trong thịt một số loài cá ở khu vực sông Gianh thuộc địa bàn huyện Quảng Trạch, tỉnh Quảng Bình qua 2 đợt khảo sát ở Hình 2 cho thấy:



Hình 2. Hàm lượng Zn trong thịt các loài cá ở sông Gianh

Hàm lượng Zn trong thịt các loài cá khác nhau không nhiều giữa 2 đợt khảo sát, dao động trong khoảng 3,803 ÷ 9,000 ppm (mg/kg tươi). Hàm lượng Zn trung bình trong các mẫu thịt cá qua 2 đợt khảo sát là 7,058 ppm tươi (n = 12) và hàm lượng đó nằm trong phạm vi cho phép theo Quyết định 46/2007/QĐ-BYT của Bộ Y tế quy định về giới hạn tối đa cho phép của chất ô nhiễm trong thực phẩm (quy định hàm lượng Zn ≤ 100 mg/kg) [7].

4. KẾT LUẬN

Phương pháp F-AAS là phương pháp thích hợp để xác định hàm lượng kẽm trong các mẫu thịt cá. Phương pháp có giới hạn phát hiện thấp, độ đúng và độ lặp lại tốt.

Hàm hượng kẽm trong thịt của sáu loài cá ở khu vực sông Gianh nằm trong khoảng 3,803 ÷ 9,000 mg/kg tươi và dưới mức cho phép theo quy định hiện hành của Bộ Y tế về giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hoá học trong thực phẩm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Huy Bá. *Độc học môi trường cơ bản,* Nxb ĐHQG TP Hồ Chí Minh, 2008.

2. Phạm Luận. *Phương pháp phân tích phổ nguyên tử,* Nxb ĐHQG Hà Nội, 2006.

3. Phạm Luận. *Những vấn đề cơ sở của các kỹ thuật xử lý mẫu phân tích*, Nxb ĐHTHQG Hà Nội, 1999.

4. Nguyễn Mậu Thành. *Xác định, đánh giá hàm lượng chì và đồng trong trong nghêu ở khu vực sông Gianh bằng phương pháp F-AAS*, Tạp chí Hóa học và Ứng dụng, Hội Hóa học Việt Nam, số 4(36), tr.1-5, 2016.

5. Nguyễn Mậu Thành, Nguyễn Đình Luyện. *Phân tích, đánh giá hàm lượng một số kim loại trong thịt cá lóc (Channa maculata) nuôi ở khu vực xã Ngư Thủy Bắc, huyện Lệ Thủy, tỉnh Quảng Bình,* Tạp chí Hóa học, số 3e12 *55*, tr 85-89, 2017.

6. Nguyễn Mậu Thành, Nguyễn Thị Nhàn. *Phân tích, đánh giá hàm lượng đồng và kẽm trong lá cây đinh lăng (Polyscias fruticosa (L.) Harms) ở thành phố Đồng Hới tỉnh Quảng Bình bằng phương pháp F-AAS,* Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học, tập 24, số 4A, tr.162 – 167, 2019.

7. Bộ Y Tế. Quyết định số 46/2007/QĐ-BYT, "*Quy định giới hạn tối đa ô nhiễm sinh học và hoá học trong thực phẩm"*, Hà Nội, 2007.

8. AOAC International (2012). AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals.

9. AOAC International (1995). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 16th ed., (Arlington, Virginia).

10. Horwitz W., Albert R.,. *The Concept of Uncertainty as Applied to Chemical Measurement*, Analyst 122. 615-617, 1997.

11. Miller J. C., Miller J. N., *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, Ed. 6th, Pearson Education Limited, England, 2010.

12. Farkas, A., Salanki, J., & Varanka, I.,. *Heavy metal concentrations in fish of Lake Balaton*. Lakes and Reservoirs: Research and Management, 5, 271-279, 2000. doi: 10.1046/j.1440-1770.2000.00127.