

**NGHIÊN CỨU XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CÁC NGUYÊN TỐ ĐỘC HẠI
TRONG MỘT SỐ LOẠI NẤM LINH CHI Ở VÙNG BẮC TRUNG BỘ CỦA VIỆT
NAM BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ**

Đến tòa soạn 16 - 6 - 2015

Đinh Thị Trường Giang

Đại học Vinh

SUMMARY

**RESEARCH TO DETERMINE THE AMOUNT OF TOXIC ELEMENTS IN
GANODERMA FROM NORTH CENTRAL REGION OF VIETNAM BY ATOMIC
ABSORPTION SPECTROSCOPY (AAS)**

Measured parameters and conditions to determine the content of toxic elements were researched. Arsenic was analyzed by HG-AAS, whereas cadmium and lead were analyzed by GF-AAS, mercury was analyzed by CV-AAS. The amount of toxic elements in ganoderma has been determined by AAS using the calibration curve. Analyzing the results of representative samples were compared with the results measured by ICP-MS with arsenic and mercury, by ASV with cadmium and lead. Difference between the results is less than 15% is acceptable, except for the results of cadmium in MN 1050 sample.

1. MỞ ĐẦU

Nấm Linh Chi là các dược liệu mà con người từ xa xưa đã biết dùng làm thuốc, có tác dụng bảo vệ gan, giải độc, tiêu đờm, lợi tiểu, ích vị (bổ dạ dày). Bên cạnh những nguyên tố có lợi cho sức khỏe con người như Se, Mn, Fe, Cu, Zn thì As, Hg, Cd, Pb được biết đến là những nguyên tố có độc tính cao có thể gây ra nhiều bệnh hiểm nghèo, đặc biệt là ung thư. Giới hạn tối đa cho phép của asen (As) đi vào cơ thể theo trọng lượng người lớn là 0,002mg/kg, tương đương 0,12mg/ngày. Trong thức ăn

hàm lượng chung của asen luôn phải bé hơn 0,02mg/kg [1]. Theo EPA và FAO/WHO hàm lượng tiêu thụ thủy ngân (Hg) của người lớn phải bé hơn 0,021mg/ngày, và theo trọng lượng cơ thể thì giới hạn tối đa cho phép là 0,005mg/kg. Cadimi (Cd), chì (Pb) có độc tính không kém As, Hg, theo WHO, hàm lượng Cd và Pb, trong các loại thực vật thô không được vượt quá 0,3mg/kg và 10mg/kg [2],[4],[5].

Các mẫu nấm linh chi được thu hái từ nhiều vị trí khác nhau thuộc vùng Bắc Trung Bộ Việt Nam. Trong các công bố trước đây

chúng tôi đã tiến hành phân tích, đánh giá hàm lượng các nguyên tố vi lượng, trong công trình này, chúng tôi tiếp tục phân tích đánh giá hàm lượng các nguyên tố độc hại As, Hg, Cd, Pb trong 10 loại nấm Linh Chi nhằm góp phần xác định thông tin, đánh giá đầy đủ thành phần của các loại nấm linh chi ở vùng Bắc Trung Bộ nói riêng và ở Việt Nam nói chung.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Thiết bị và dụng cụ

Thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử AAS-6800 Shimadzu -Nhật Bản (Trung tâm Phân tích - Viện Nghiên cứu hạt nhân Đà Lạt) với kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa (GF-AAS) hydrua hóa (HG-AAS). Hệ thống ống sinh hàn hồi lưu có bình cầu đáy tròn để xử lý các mẫu nấm. Thiết bị phổ khối Plasma cao tần cảm ứng ICP-MS-Agilent 7500-Mỹ (Viện Công nghệ Xa Hiếm - Láng Hạ - Hà Nội). Máy cực phổ đa chức năng 797 VA Computrace -Metrohm, Thụy sỹ (Đại học Vinh). Cân phân tích satorius chính xác $\pm 0,1\text{mg}$ (Đức). Máy nghiền thực phẩm. Bình định mức, pipet, cốc, các dụng cụ thí nghiệm đều làm bằng thủy tinh thạch anh và ngâm rửa trong dung dịch HNO_3 5% ít nhất 6 giờ, sau đó rửa sạch lại nhiều lần bằng nước cất đion trước khi sử dụng.

2.2. Hóa chất

Các dung dịch chuẩn gốc As(V), Hg(II), Cd(II), Pb(II) 1000mg/lít, các dung dịch H_2O_2 30%, HCl 37%, HNO_3 65%, H_2SO_4 98%, HClO_4 , các hóa chất rắn NaBH_4 , KI, NaOH, hydroxylamin sunfat, SnCl_2 đều thuộc loại tinh khiết phân tích (PA) của Merck (Đức). Nước cất sử dụng trong nghiên cứu là nước cất đion.

2.3. Chuẩn bị mẫu phân tích

10 mẫu nấm linh chi được lấy từ Vườn Quốc gia Pù Mát - Nghệ An vào tháng 5/2013. Các mẫu sau khi lấy về được rửa sạch, phơi khô tự nhiên, bảo quản trong túi nilon. Ký hiệu thứ tự, tên các mẫu nấm tương ứng được ghi trong bảng 3.2.

2.3.1. Chuẩn bị mẫu phân tích Asen

Dùng dao cắt các mẫu nấm, mỗi mẫu khoảng 20g, nghiền mẫu và cân chính xác 0,5g mẫu cho vào bình cầu đáy tròn gắn với hệ thống ống sinh hàn hồi lưu, thêm 10ml H_2SO_4 đặc, 10mg H_2O_2 30%, thêm vài hạt đá bọt, đun sôi đến khi có khói H_2SO_4 . Nếu mẫu đục thì thêm tiếp 5ml H_2O_2 30% (có thể lặp lại, thêm 5ml H_2O_2 2-3 lần để chuyển hoàn toàn As thành As(V). Khi mẫu trong thì để nguội, thêm 20ml HCl đặc và 8ml dung dịch KI để khử As(V) thành As(III), đun nhẹ ở 50°C trong 30 phút, để nguội dung dịch và chuyển vào bình định mức 100ml.

2.3.2. Chuẩn bị mẫu xác định Cd, Pb

Cân 0,5g mẫu nấm xay mịn, chuyển vào bình Kendan 250ml có cắm phễu lọc nhỏ, thêm 5ml nước, 10ml hỗn hợp HClO_4 : HNO_3 (1.1), 20ml H_2SO_4 đặc, trộn đều bằng đũa thủy tinh, rồi đun mẫu ở $200 - 250^\circ\text{C}$ trong 2-3 giờ, đến khi mẫu trong, cô cạn dung dịch ở $60-80^\circ\text{C}$ đến muối trắng ẩm, chuyển vào bình định mức 25ml và định mức bằng dung dịch HNO_3 0,2%.

2.3.3. Chuẩn bị mẫu xác định Hg

Lấy 25g mẫu cho vào bình phân thủy, thêm 12ml dung dịch H_2SO_4 9M, 10ml dung dịch HNO_3 7M, 0,5ml dung dịch Natrimolipdat 2%, vài viên đá bọt, lắp với bộ sinh hàn, đun nhẹ trong 1 giờ, sau đó ngừng đun trong 15 phút, dung dịch nguội sẽ thêm 10ml dung dịch hỗn hợp (HNO_3 và HClO_4) theo tỷ lệ 1:1, tiếp tục đun sôi mạnh đến khi có

khói trắng trong bình và tiếp tục đun trong 10 phút. Để nguội, thêm 10ml H₂O, khuấy đều, đun sôi tiếp dung dịch trong 10 phút, rồi ngừng đun và rửa bộ sinh hàn, để dung dịch nguội tới nhiệt độ phòng, định mức tới vạch trong bình định mức 50ml, chờ đo bằng phương pháp CV-AAS sau khi khử bằng hệ hydroxylamin sunfat - SnCl₂ [6].

2.4. Phương pháp xác định

Để xác định hàm lượng Asen, chúng tôi đã lựa chọn sử dụng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật hidrua hóa (HG-AAS). Kết quả phân tích được so sánh với phương pháp phổ khối Plasma cảm ứng cao tan (ICP-MS).

Để xác định hàm lượng Cd, Pb, chúng tôi đã lựa chọn phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa (GF-AAS). Kết quả phân tích được so sánh với phương pháp Von-Ampe hòa tan anot xung vi phân (ASV).

Để xác định hàm lượng Hg, chúng tôi đã lựa chọn phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử kỹ thuật hóa hơi lạnh (CV-AAS), Kết quả phân tích được so sánh với phương pháp ICP-MS.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu các thông số ghi đo tối ưu để định lượng As, Cd, Pb, Hg

Bằng cách thay đổi giá trị một số thông số như tốc độ bơm HCl, tốc độ bơm NaBH₄, tốc độ hút mẫu, thời gian khử, tốc độ dẫn khí mang Ar và một số điều kiện khác. Chúng tôi đã lựa chọn được các điều kiện tối ưu cho phép ghi đo thu nhận được độ hấp thụ quang lớn nhất. Một số thông số khác như λ hấp thụ, độ rộng khe đo, được lựa chọn trên sự tham khảo các tài liệu và sự mặc định phần mềm để xác định các nguyên tố. Kết quả nghiên cứu và khảo sát các thông số ghi đo, các điều kiện phân tích các nguyên tố được trình bày ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Các thông số và điều kiện ghi đo tối ưu xác định As, Cd, Pb, Hg bằng phương pháp AAS.

Thông số	As	Cd	Pb	Hg
Bước sóng (nm)	193,7	228,8	283,3	253,7
Khí				
Khí mang Ar	70ml/phút			
Nồng độ HCl (trong bình phản ứng)	6N			
Tốc độ bơm HCl	2 ml/phút			
Nồng độ chất khử	1%			
Tốc độ bơm NaBH ₄	0,2 ml/phút			
Thời gian khử	60 phút			
Tốc độ hút mẫu	6 ml/phút			
Nồng độ SnCl ₂ (trong bình phản ứng)				0,05M
Công suất đèn catot rỗng(mA)	12	10	12	3
Độ rộng khe đo (nm)	1	1	0,2	0,16

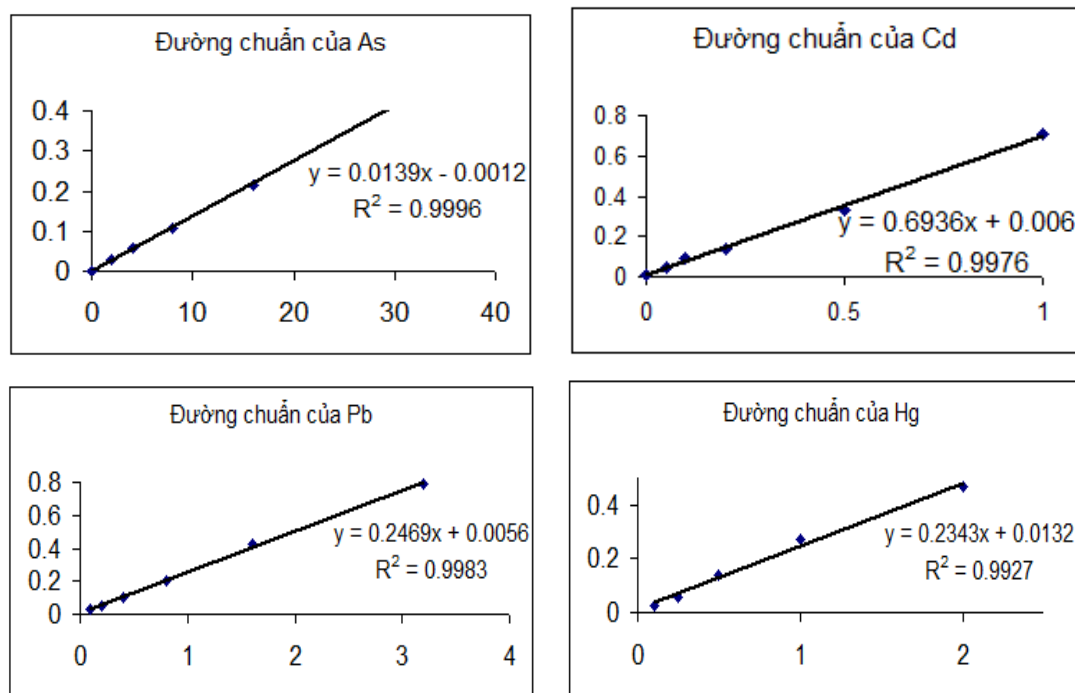
3.2. Xây dựng đường chuẩn xác định As, Cd, Pb, Hg

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn As(V) có nồng độ trong khoảng 0,0-32,0 µg/lít (ppb) và sử dụng các chất khử NaBH₄, KI để khử Asen về dạng H₃As, sau đó hơi H₃As được dẫn vào cuvet thạch anh và nguyên tử hóa thành As, hơi asen sẽ hấp thụ bức xạ từ đèn catot rỗng có $\lambda = 193,7\text{nm}$. Ghi đo độ hấp thụ quang của As ở các giá trị nồng độ dung dịch chuẩn khác nhau đã chuẩn bị.

Tương tự như với As, chuẩn bị các dung dịch chuẩn Cd có nồng độ trong khoảng 0,0 - 1,0 ppm, Pb có nồng độ trong khoảng 0,1-3,2 ppb và Hg có nồng độ trong khoảng

0,0 - 2,0 ppb, (riêng đối với Hg phải có thêm hệ khử Natriclorua, hydroxylamin sunfat và SnCl₂).

Ghi đo độ hấp thụ quang của các nguyên tố nghiên cứu như các điều kiện như ghi trong bảng 3.1. Kết quả xây dựng đường chuẩn thể hiện sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ quang và nồng độ các ion của các nguyên tố As, Cd, Pb, Hg được trình bày ở hình 3.1.



Hình 3.1. Các đường chuẩn xác định As, Cd, Pb, Hg

3.3. Xác định hàm lượng As, Cd, Pb, Hg trong các mẫu nấm linh chi

Sử dụng quy trình chuẩn bị mẫu như mục 2.3; các điều kiện ghi đo, phân tích thể hiện trong bảng 3.1 và đường chuẩn xây dựng

được trong mục 3.2, chúng tôi tiến hành xác định hàm lượng các nguyên tố nghiên cứu trong 10 mẫu nấm linh chi. Kết quả phân tích, thu được được thể hiện trong bảng 3.2

Bảng 3.2. Hàm lượng As, Cd, Pb, Hg trong các mẫu nấm linh chi

STT	Tên nấm	Ký hiệu	Hàm lượng (mg/kg)			
			As	Cd	Pb	Hg
1	Ganoderma multiplicatum	MN 1050	KPH	0,044	0,061	KPH
2	Ganoderma subtornatum	MN 1051	KPH	0,153	0,041	0,023
3	Ganoderma multiplea	MN 1052	KPH	0,041	0,097	0,015
4	Ganoderma adsperum	MN 1053	0,008	0,381	0,262	0,054
5	Ganoderma fornicatum	MN 1054	KPH	0,045	0,072	KPH
6	Ganoderma sp	MN 1055	KPH	0,043	0,04	KPH
7	Ganoderma amboinense	MN 1056	0,012	0,010	0,129	0,016
8	Ganoderma simaoense	MN 1057	KPH	0,019	0,139	KPH
9	Ganoderma fulvellum	MN 1058	0,018	0,066	0,181	0,015
10	Ganoderma sp1	MN 1059	KPH	0,015	0,041	KPH

(KPH: không phát hiện)

Những kết quả phân tích thu được cho thấy hàm lượng các nguyên tố As, Cd, Pb, Hg trong các loại nấm linh chi là khác nhau khá lớn. Ngoại trừ hàm lượng Cd trong nấm linh chi Ganoclerma adsperum (MN1053), tất cả giá trị hàm lượng các nguyên tố nghiên cứu trong mẫu linh chi đưa phân tích đều nằm trong ngưỡng hàm lượng tối đa cho phép về nguyên tố độc hại của tổ chức Y tế Thế giới (WHO) và Nông lương Liên hiệp quốc (FAO) (As: 0,02

mg/kg; Cd: 0,3 mg/kg; Pb:10mg/kg; Hg: 0,5mg/kg).

3.4. Đánh giá kết quả phân tích

Để đánh giá độ tin cậy của các kết quả phân tích thu được bằng các phương pháp AAS chúng tôi đã tiến hành xác định hàm lượng As, Cd, Pb, Hg, bằng các phương pháp phân tích tiêu chuẩn so sánh ICP-MS và Von-Ampe hòa tan anot xung vi phân (DP-ASV) tương ứng. Kết quả phân tích so sánh được thể hiện ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Kết quả phân tích so sánh As, Cd, Pb, Hg trong các mẫu nấm linh chi

STT	Ký hiệu	As(mg/kg)		Cd(mg/kg)		Pb(mg/kg)		Hg(mg/kg)	
		HG-AAS	ICP-MS	GF-AAS	DP-ASV	GF-AAS	DP-ASV	CV-AAS	ICP-MS
1	MN 1050	KPH	KPH	0,044	0,050	0,061	0,055	KPH	KPH
2	MN 1051	KPH	KPH	0,153	0,142	0,041	0,035	0,023	0,026
3	MN 1052	KPH	KPH	0,041	0,032	0,097	0,089	0,015	KPH
4	MN 1053	0,008	KPH	0,381	0,413	0,262	0,271	0,054	0,058
5	MN 1054	KPH	KPH	0,045	0,049	0,072	0,078	KPH	KPH

Từ kết quả nghiên cứu so sánh thu được trên cho thấy có sự tương đồng giữa các kết quả phân tích bằng phương pháp đối chứng và phương pháp AAS nghiên cứu được; sự sai khác giữa các kết quả xác định bằng phương pháp AAS và các phương pháp phân tích so sánh không vượt quá 15%; ngoại trừ trường hợp Cd trong mẫu MN 1052 (21,95%), hàm lượng Asen trong mẫu MN-1053 và hàm lượng Hg trong mẫu 1052 nằm dưới ngưỡng có thể phân tích được bằng phương pháp ICP-MS.

4. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu xác lập các thông số ghi đo và phân tích tối ưu để xác định hàm lượng As, Cd, Pb, Hg bằng phương pháp AAS, trong đó, sử dụng kỹ thuật hidrua hóa (HG-AAS) xác định As, kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa (GF-AAS) xác định Cd, Pb và kỹ thuật hóa hơi lạnh (CV-AAS) xác định Hg. Đã tiến hành xây dựng các phương trình đường chuẩn để định lượng 4 nguyên tố nghiên cứu. Đã tiến hành xác định hàm lượng As, Cd, Pb, Hg trong 10 mẫu nấm linh chi. Kết quả phân tích định lượng As, Hg đã được so sánh với phương pháp ICP-MS; các nguyên tố Cd, Pb được so sánh với phương pháp Von-Ampe hòa tan anot xung vi phân (ASV). Sự sai khác kết quả phân tích giữa các phương pháp

hầu hết là không đáng kể, đều không vượt quá 15%, ngoại trừ kết quả phân tích Cd trong mẫu MN-1052 sai khác đến 21,95%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] European Foodsafety Authority (EFSA), Parma, Italy, (2009) "*Scientific opinion on arsenic in food*", EFSA journal, 7(10): 1351.
- [2] F. K. Zhu, L. W. Fan, M. Qiao, H. Hao, X. Wang , (2010) "*Assessment of heavy metals in some wild edible mushrooms from Yunnan Province, China*", Environ monit assess, Springer pp.191-199.
- [3] S.E. Mallikarjuna, A. Rajini, Devendra J. Haware, M.R.Vijavala Kshmi, M.N. (2013) Shashirekha and S.Rajarathnam, "*Mineral composition of four Edible Mushrooms*", Journal of Chemitry, Vol (2013) Artical ID 805284, pp. 1-6.
- [4] Authority of Ireland , (2009) "*Mercury, Lead, Cadmium, Zin and Arsenic in food*" Food safety pp. 1-13.
- [5] P. Kalac, L. Svoboda, B. H. Kova, (2004) "*Contents of cadmium and mercury in edible mushrooms*", Journal of Applied Biomedicine, (2), p.15-20.
- [6]. Tiêu chuẩn Việt Nam- TCVN 7604:2007, "*Thực phẩm- Xác định hàm lượng thủy ngân bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử không ngọn lửa*".