

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Zn TRONG CÂY MÒ HOA ĐỎ BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ TRONG NGỌN LỬA (F-AAS)

Phan Hà Nữ Diễm

Trường Đại học Đồng Nai

Email liên hệ: phannudiem@gmail.com

(Ngày nhận bài: 02/5/2024, ngày nhận bài chỉnh sửa: 20/6/2024, ngày duyệt đăng: 21/6/2024)

TÓM TẮT

Cây Mò hoa đỏ là một trong số cây dược liệu chứa nhiều nguyên tố vi lượng cần thiết cho cơ thể, cây có thể sống được ở nhiều vùng đất khác nhau. Zn là nguyên tố vi lượng có trong hoa, lá, thân và rễ của cây Mò hoa đỏ, có hàm lượng từ 0,972 – 1,511 mg/L, được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử trong ngọn lửa. Dược liệu được thu hoạch ở những thời điểm và địa điểm khác nhau có hàm lượng Zn không khác nhau về mặt thống kê.

Từ khóa: Zn, cây Mò hoa đỏ, F-AAS

1. Giới thiệu

Các nhà nghiên cứu: Piletz và Ganschow (1978), Zimmerman và cộng sự (1982), Atkinson và cộng sự (1989) cho biết mối tương quan sinh hóa cơ bản sau tính năng lâm sàng không dễ dàng để nhận biết. Khi thiếu kẽm, gen lặn trên nhiễm sắc thể thường lại di truyền và một số rối loạn nghiêm trọng khác (Costa & nnk., 2023), (Kambe & nnk., 2015). Năm 1984, Ghishan cho biết thiếu kẽm sẽ làm suy giảm hệ miễn dịch và sự vận chuyển tế bào niêm mạc ruột dẫn đến tiêu chảy (Despoina & nnk., 2023), (Chasapis & nnk., 2020).

Các công trình: Bates (1993), Cavan (1993), Brown (1998) và Kikafunda (1998) đã chứng minh được việc bổ sung kẽm cho kết quả tăng trọng lượng và tăng trưởng chiều cao khi dùng cho trẻ em ở nhiều nước. Năm 1999, Bhutta và cộng sự chứng minh việc bổ sung kẽm ở trẻ em tại các nước

đang phát triển đã giảm đáng kể về tỷ lệ viêm phổi (Ghaedi & nnk., 2009).

Hầu hết các loại thực vật ở nước ta đều có thể được sử dụng làm thuốc. Vì vậy, cây cỏ không phải là “cỏ cây vô loại” mà là những ân nhân nuôi dưỡng, che chở, bảo vệ cho chúng ta, thậm chí còn chữa bệnh cho chúng ta nữa (Phạm Hoàng Hộ, 1999). Cây Mò hoa đỏ có tên khoa học: *Herba Clerodendri Japonici*, được dùng để điều trị nhiều loại bệnh như kháng khuẩn, chống viêm, vàng da, mụn lở, huyết áp cao, đau nhức xương khớp, kinh nguyệt không đều, viêm tử cung... (Đỗ Tất Lợi, 1999), (Võ Văn Chi, 2003).

Để phân tích lượng vết Zn, người ta đã và đang sử dụng nhiều phương pháp phân tích khác nhau như các phương pháp phân tích trắc quang, quang phổ hấp thụ nguyên tử, quang phổ phát xạ nguyên tử và phân tích điện hóa...nhưng chủ yếu người ta sử dụng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) để

phân tích lượng vết và siêu vết Zn trong nhiều đối tượng mẫu khác nhau như mẫu sinh hóa, mẫu môi trường, chế phẩm thuốc, dược phẩm... (Phạm Luận, 2006), (Hồ Viết Quý, 2004).

Nhằm tạo ra những sản phẩm đồng đều về hàm lượng của các nguyên tố vi lượng nên tiến hành khảo sát thành phần hóa học, tác dụng sinh học của các dược liệu là rất cần thiết. Trong bài báo này, tôi xác định hàm lượng Zn có trong năm bộ phận của cây Mò hoa đỏ được thu hoạch ở hai thời điểm khác nhau (mùa nắng và mùa mưa) bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử trong ngọn lửa.

2. Thực nghiệm

Quy trình lấy mẫu, bảo quản và xử lý mẫu có sự cải biến dựa trên tài liệu tham khảo của Nguyễn Viết Khản (2007), Hà Văn Anh (2012).

2.1. Lấy mẫu và bảo quản mẫu

Mẫu phân tích gồm hoa (hái nguyên cụm), lá và thân (dùng dao không gỉ, bóc lấy lớp vỏ bên ngoài) của cây Mò hoa đỏ. Mẫu được rửa sạch bằng nước cất và xác định độ ẩm: Cân mẫu ban đầu được $a(g)$, đem sấy ở nhiệt độ 90°C (trong 2h đối với lá, 4h đối với hoa và thân), sau đó cân lại được $a_1(g)$.

$$\text{Độ ẩm (\%)} = \frac{a - a_1}{a} \cdot 100\%.$$

2.2. Quy trình xử lý mẫu

Phương pháp vô cơ hóa ướt trong lò vi sóng: Dùng năng lượng vi sóng để đốt nóng tác nhân vô cơ hóa và mẫu trong bình kín. Ở điều kiện này, phản ứng xảy ra dưới áp suất và nhiệt độ cao

làm tăng tốc độ vô cơ hóa. Đây là phương pháp xử lý mẫu hiện đại, giảm đáng kể thời gian xử lý mẫu, không mất mẫu và vô cơ hóa triệt để, có thể vô cơ hóa nhiều mẫu cùng một đối tượng. Có thể điều khiển quá trình vô cơ hóa từ xa bằng một máy vi tính. Do đó, làm tăng độ an toàn cho người sử dụng và độ tin cậy của hệ thống. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ vô cơ hóa được một lượng mẫu nhỏ, tác nhân vô cơ hóa có độ tinh khiết cao và đòi hỏi thiết bị đắt tiền.

Lấy 1,0000g mẫu cho vào bình teflon, thêm 10,00 mL HNO_3 65% và 2,00 mL H_2O_2 30% đặt vào lò vi sóng ở 200°C trong 60 phút (15 phút đầu đưa nhiệt độ từ $0^{\circ} - 100^{\circ}\text{C}$; và sau đó nâng nhiệt độ lên 200°C , giữ trong 30 phút; 15 phút còn lại đưa nhiệt độ về 100°C), công suất 500W. Để nguội, lọc, lấy nước lọc cho dịch lọc vào bình định mức dung tích 50 mL, lắc đều, thêm nước cất đến vạch, lắc kỹ. Dung dịch thu được dùng để xác định Zn bằng phương pháp F – AAS.

3. Kết quả thực nghiệm

3.1. Khoảng tuyến tính

Để khảo sát khoảng tuyến tính, tôi tiến hành xác định độ hấp thụ của dung dịch chuẩn chứa Zn: (1) Từ dung dịch chuẩn gốc, Zn có nồng độ 1000 mg/L, pha dãy các dung dịch có nồng độ 0,2; 0,4; 0,8; 1,0 và 2,0 mg/L: Cho vào bình định mức dung tích 100mL: 1mL dung dịch chuẩn gốc kèm 1000 mg/L, định mức đến vạch bằng nước cất, lắc đều. Dung dịch thu được chứa kẽm có nồng độ 10 mg/L. (2) Đánh STT 5 bình định

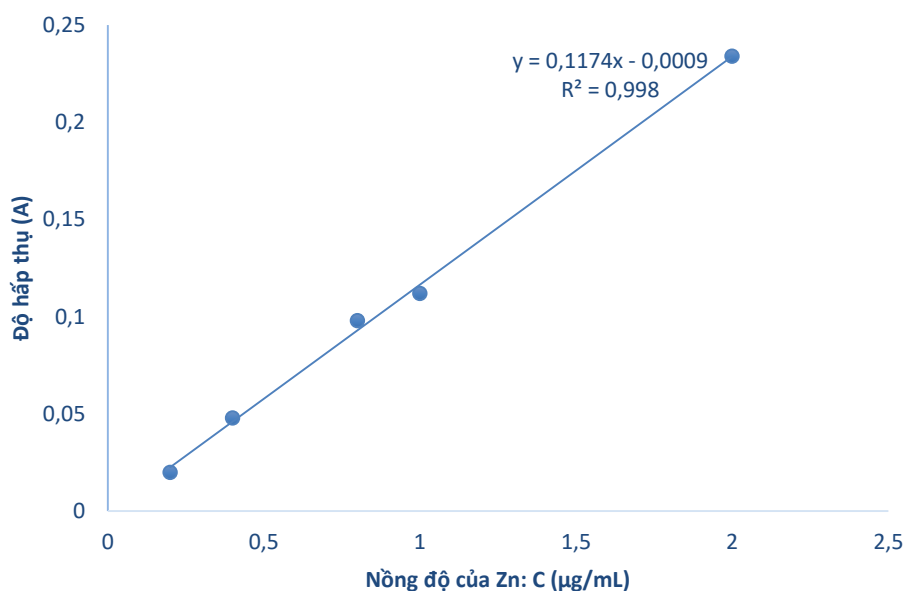
mức dung tích 25mL. Cho dung dịch chuẩn 10mg/L đã chuẩn bị ở (1) vào 5 bình định mức ở (2) với thể tích tương ứng là 0,5mL; 1,0mL; 2,0mL; 2,5mL và 5,0mL rồi định mức đến vạch bằng nước cất. Lập đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ và nồng độ dãy

chuẩn. Mỗi nồng độ được thực hiện 3 lần đo để lấy giá trị trung bình.

Sự tương quan giữa nồng độ Zn ($\mu\text{g/mL}$) và độ hấp thụ A (bảng 1) thu được đường hồi quy tuyến tính, có hệ số tương quan R (hình 1), sử dụng phần mềm Excel 2003.

Bảng 1: Kết quả xác định độ hấp thụ của Zn ở các nồng độ khác nhau

Nồng độ ($\mu\text{g/mL}$)	0,2	0,4	0,8	1,0	2,0
Độ hấp thụ - A	0,02	0,048	0,098	0,112	0,234



Hình 1: Biểu diễn khoảng tuyến tính qua đường hồi quy

$$y = (-0,0009 \pm 0,0033) + (0,1174 \pm 0,0031)x, \quad R = 0,99897$$

Trong đó: y là độ hấp thụ A; x là nồng độ C ($\mu\text{g/mL}$)

Vậy, ở nồng độ từ 0,2 đến 2,0 ($\mu\text{g/mL}$), có tương quan tuyến tính giữa độ hấp thụ và nồng độ Zn, với $R = 0,99897$.

3.2. Xác định giới hạn phát hiện (GHPH) và giới hạn định lượng (GHDL)

GHPH được tính theo “quy tắc 3 σ ” và dựa vào hồi quy tuyến tính:

$$y_{\text{LOD}} = y_B + 3\sigma_B$$

$$\text{hay } y_{\text{LOD}} = y_B + 3S_B \quad (1)$$

Trong đó, y: độ hấp thụ ứng với GHPH

y_B : tín hiệu mẫu trắng

σ_B (hay S_B): độ lệch chuẩn của tín hiệu mẫu trắng.

Để tính y_B và S_B , thiết lập phương trình hồi quy tuyến tính dạng $y = a + bC$, Từ đó chấp nhận tín hiệu mẫu trắng (y_B) là tín hiệu khi $C = 0$, suy ra $y_B = a$. Độ lệch chuẩn của tín hiệu mẫu trắng (S_B) được chấp nhận bằng độ lệch chuẩn của tín hiệu y trên đường hồi quy tuyến tính, tức là:

$$S_B = S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n-2}} \quad (2)$$

Ở đây: y_i là giá trị thực nghiệm của y
 Y_i là các giá trị tính từ phương trình hồi quy tuyến tính của y

Từ (1) và (2), ta có:

$$y = y_B + 3S_B = a + 3S_{y/x} \quad (3)$$

GHPH được tính từ phương trình hồi quy tuyến tính $y = a + bx$ và từ (3):

$$x \text{ ứng với GHPH hay } GHPH = \frac{3S_{y/x}}{b}$$

Trong đó, b là độ dốc của đường hồi quy tuyến tính và cũng là độ nhạy của phương pháp.

Để xác định GHPH, người ta xây dựng đường hồi quy tuyến tính ở gần gốc tọa độ (trong khoảng hẹp của nồng độ các kim loại cần xác định ở gần gốc tọa độ).

Người ta thường chấp nhận $GH\Delta L = 10y_B + 10 S_B$, hay một cách gần đúng: $GH\Delta L = 3 \div 4 GHPH$

Phương pháp AAS, có $a = -0,0009$, $b = 0,1174$, $R = 0,99897$, $GH\Delta L_{Zn} = 0,33 \mu\text{g/mL}$ và tương đối thấp: $GHPH_{Zn} = 0,11 \mu\text{g/mL}$.

Vậy, dùng phương pháp F – AAS Có thể dùng để định lượng Zn ở dạng vết.

3.3. Khảo sát độ đúng

Kết quả khảo sát độ đúng được tiến hành trên 7 mẫu lá già được thu hoạch ở Phú Bài khi thêm cùng một lượng chuẩn ($1,2 \mu\text{g/mL}$) được trình bày trong bảng 2.

Bảng 2: Kết quả khảo sát độ đúng của phương pháp trên mẫu Lá già ở Phú Bài

STT	Lượng thêm ($\mu\text{g/mL}$)	Lượng Zn tìm lại ($\mu\text{g/mL}$)	% Zn Tìm lại
1	1,20	1,21	100,8
2	1,20	1,17	97,5
3	1,20	1,16	96,7
4	1,20	1,18	98,3
5	1,20	1,17	97,5
6	1,20	1,18	98,3
7	1,20	1,22	101,7
		TB (%)	98,7
Số liệu thống kê		RSD (%)	1,9
		ε	$\pm 1,7$

Bảng 2 thể hiện độ đúng tốt, phần trăm tìm lại là $98,7 \pm 1,7$. Độ lệch chuẩn 1,9.

3.4. Khảo sát quy trình vô cơ hóa mẫu

Lấy 2,5mL dung dịch chuẩn Zn (10,0 µg/ML) cho vào cốc 25mL, tiến hành vô cơ hóa ướt. Kết quả xác định nồng độ Zn trong dung dịch được trình bày ở bảng 3.

Bảng 3: Kết quả khảo sát quy trình vô cơ hóa

STT	Nồng độ thực (µg/mL)	Nồng độ tìm lại (µg/mL)	% Tìm lại
1	1,00	0,987	98,7
2	1,00	0,988	97,8
3	1,00	0,971	97,1
4	1,00	0,987	98,7
5	1,00	0,965	96,5
Số liệu thống kê		TB (%)	98,3
		RSD (%)	0,8
		ε	± 1,0

Kết quả trong bảng 3 cho thấy, phương pháp vô cơ đã chọn bảo toàn được Zn đem vô cơ hóa, phần trăm tìm lại là $98,3 \pm 1,0$ % và cho độ lặp lại cao với $RSD(\%) = 0,8\%$.

3.5. Xác định độ lặp lại của phương pháp

Kết quả khảo sát độ lặp lại được tiến hành trên 7 mẫu lá già ở Phú Bài (bảng 4).

Bảng 4: Kết quả khảo sát độ lặp lại của phương pháp trên mẫu lá già ở Phú Bài

STT	Lượng cân (g)	Hàm lượng (mg/kg hay ppm)	Hàm lượng (%)
1	1,0043	63,975	6,37
2	1,0063	59,426	5,91
3	1,0031	65,597	6,53
4	1,0086	58,745	5,82
5	1,0029	62,967	6,28
6	1,0097	63,187	6,26
7	1,0038	64,704	6,45
Số liệu thống kê		TB (%)	6,23
		RSD (%)	0,072
		ε	± 0,25

Bảng 4 cho thấy độ lặp lại chấp nhận được. Với RSD (%) từ 2,97 – 4,31 %.

3.6. Áp dụng thực tế xác định hàm lượng Zn trong cây Mò hoa đỏ

Tiến hành xác định hàm lượng Zn trong 20 mẫu được liệu là các bộ phận

của cây Mò hoa đỏ ở vùng núi (Núi Châu Ê, Thủy Bằng, Hương Thủy) và vùng đồng bằng (Thôn 1B, Thủy Phù, Phú Bài) vào 2 đợt: mùa mưa (1) và mùa nắng (2).

Bảng 5: Kết quả phân tích các bộ phận của cây Mò hoa đỏ ở đợt 1 và đợt 2

Mẫu (Đợt 1)	Lượng mẫu (g)	Lượng Zn (mg/L)	Mẫu (đợt 2)	Lượng mẫu (g)	Lượng Zn (mg/L)
Hoa PB1	1,0036	1,496	Hoa PB2	1,0024	1,511
Lá non PB1	1,0041	1,176	Lá non PB2	1,0029	1,376
Lá già PB1	1,0035	1,335	Lá già PB2	1,0041	1,393
Thân PB1	1,0046	1,006	Thân PB2	1,0034	0,994
Rễ PB1	1,0030	0,982	Rễ PB2	1,0039	1,176
Hoa HT1	1,0040	1,411	Hoa HT2	1,0043	1,486
Lá non HT1	1,0049	1,112	Lá non HT2	1,0021	1,298
Lá già HT1	1,0049	1,317	Lá già TH2	1,0049	1,361
Thân HT1	1,0043	0,972	Thân HT2	1,0038	1,024
Rễ HT1	1,0038	0,987	Rễ HT2	1,0026	1,108

Sử dụng đường chuẩn xây dựng từ bảng 1 và các đường hồi quy hình 1.

$$y = (-0,0009 \pm 0,0033) + (0,1176 \pm 0,0031)x, \quad R = 0,99897$$

Dùng Data Analysis trong Microsoft Excel 2019, áp dụng phương pháp ANOVA 2 yếu tố đánh giá hàm lượng Zn giữa các bộ phận của cây Mò

hoa đỏ ở Phú Bài và Hương Thủy được thu hoạch ở đợt 1.

Theo phương pháp thống kê, hàm lượng Zn giữa các bộ phận của cây Mò hoa đỏ:

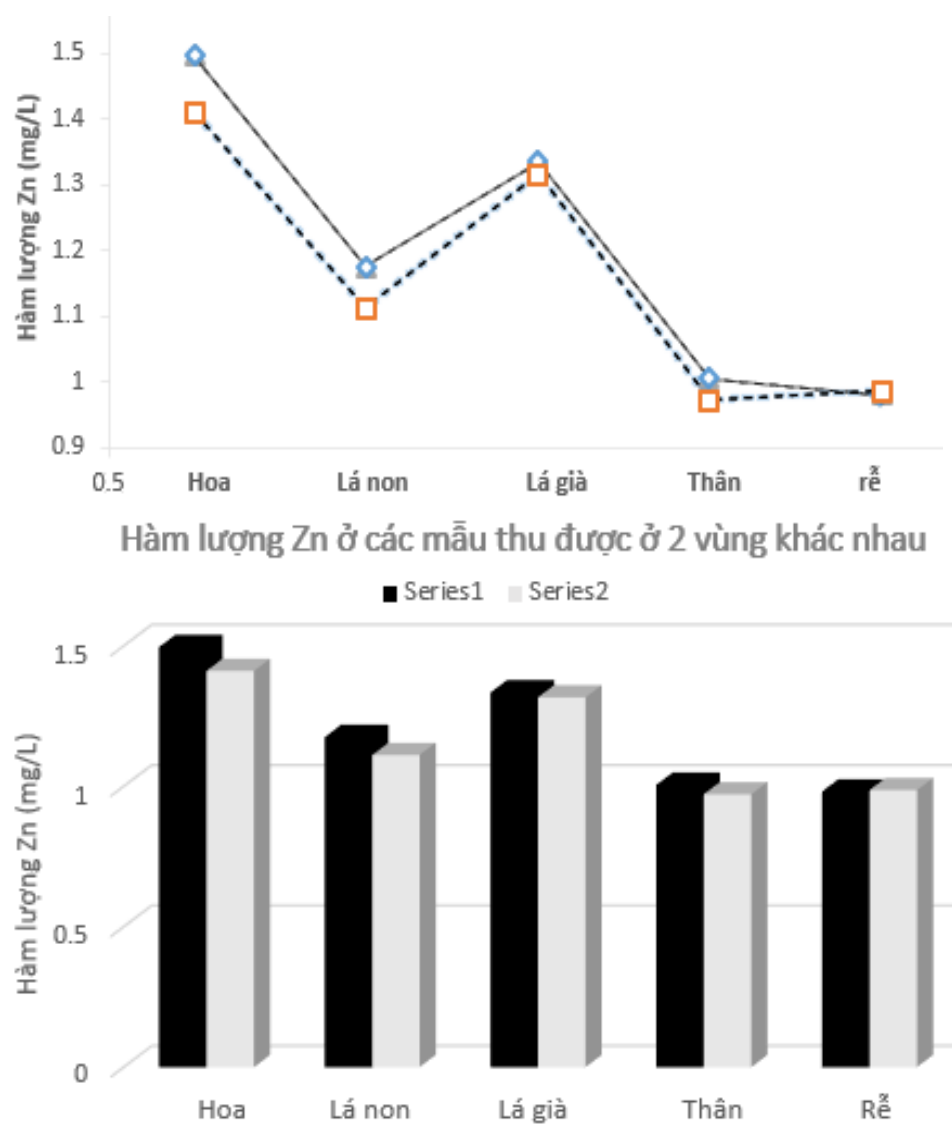
Vì $F_{\text{tính}} = 0,220 < F_{\text{bảng}} = 4,459$ với $P = 0,807$.

Kết luận: Hàm lượng Zn giữa các bộ phận của cây Mò hoa đỏ không khác

nhau.

So sánh hàm lượng Zn trong cây
Mò hoa đỏ ở Phú Bài và Hương Thủy.
Vì $F_{tính} = 1,005 < F_{bảng} = 3,839$ với

$P = 0,459$.
Kết luận: Hàm lượng Zn trong cây
Mò hoa đỏ ở Phú Bài và Hương thủy
không khác nhau.



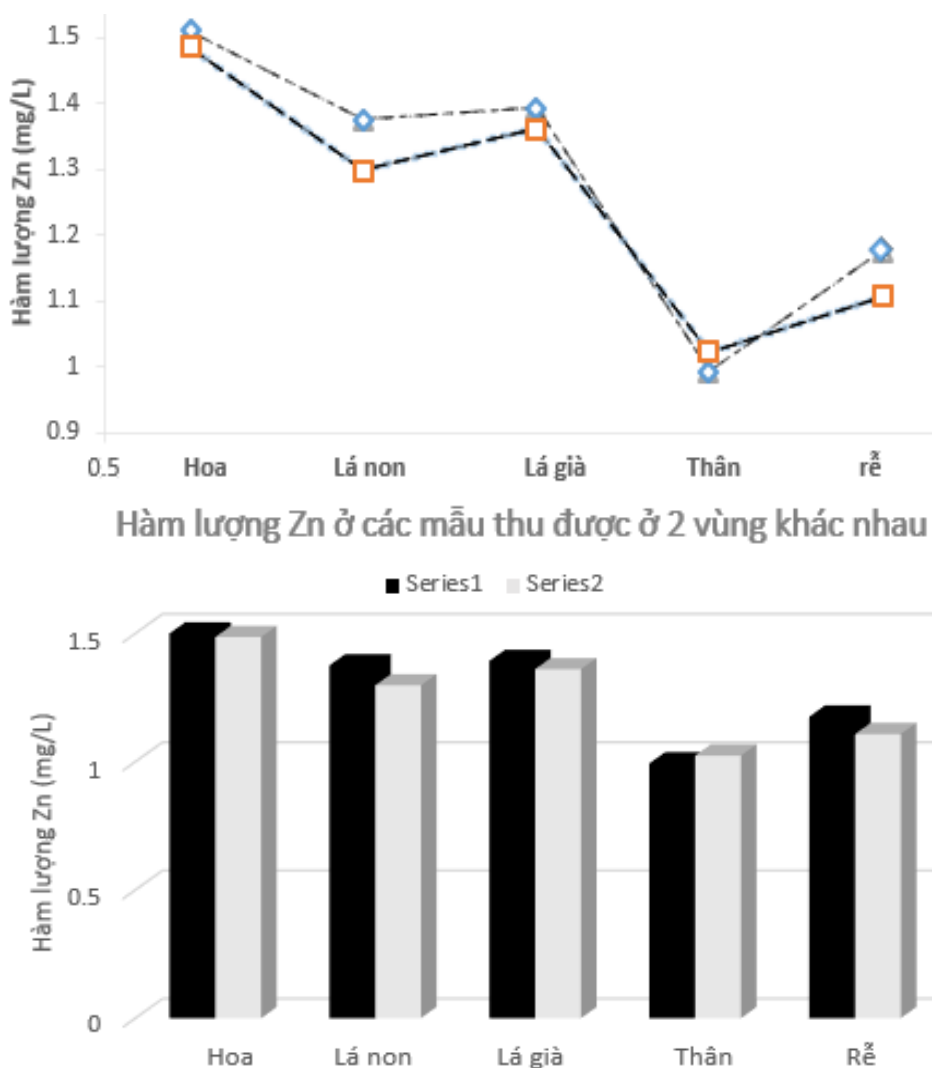
Hình 2: Hàm lượng Zn trong các mẫu ở Phú Bài và Hương Thủy (đợt 1)

Hàm lượng Zn trong các bộ phận của dược liệu là như nhau với mức ý nghĩa $p > 0,1$. Hàm lượng Zn trong dược liệu thu hoạch ở Phú Bài và Hương Thủy là như nhau với mức ý nghĩa $p > 0,1$.

So sánh hàm lượng Zn giữa các bộ phận và giữa hai vùng đất khác nhau thu được ở đợt 2 bằng Data Analysis trong Microsoft Excel 2019, thông qua ANOVA 2 yếu tố.

Hàm lượng Zn giữa các bộ phận

của cây Mò hoa đỏ (đợt 2) không khác với $P = 0,965$.
 nhau. Vì $F_{\text{tính}} = 0,036 < F_{\text{bảng}} = 4,459$



Hình 3: Hàm lượng Zn trong các mẫu thu được ở Phú Bài và Hương Thủy (đợt 2)

Hàm lượng Zn trong cây Mò hoa đỏ ở Phú Bài và Hương Thủy không khác nhau vì $F_{\text{tính}} = 1,005 < F_{\text{bảng}} = 3,839$ với $P = 0,265$.

Hàm lượng Zn trong từng bộ phận của cây Mò hoa đỏ là như nhau với mức ý nghĩa $p > 0,1$. Hàm lượng Zn trong từng bộ phận của cây Mò hoa đỏ thu

hoạch ở những vùng khác nhau là như nhau với mức ý nghĩa $p > 0,1$.

Dùng Data Analysis trong Microsoft Excel 2019, áp dụng phương pháp ANOVA 1 yếu tố để đánh giá sự khác nhau về hàm lượng Zn trong các bộ phận của cây Mò hoa đỏ ở hai địa điểm lấy mẫu giữa hai đợt.

Bảng 6: Các giá trị so sánh $F_{tính}$ và $F_{bảng}$ về hàm lượng Zn trong các bộ phận của cây Mò hoa đỏ giữa hai đợt lấy mẫu

Địa điểm lấy mẫu	$F_{tính}$	P	$F_{bảng}$	Kết luận
Phú Bài	3,516	0,098	5,318	Không khác nhau
Hương Thủy	0,848	0,384	5,318	Không khác nhau

$P > 0,05$ và $F_{tính} < F_{bảng}$ thì không có sự sai khác. Nghĩa là, hàm lượng Zn trong các bộ phận của cây Mò hoa đỏ thu hái ở Phú Bài và Hương Thủy giữa 2 đợt lấy mẫu là không khác nhau ở mức ý nghĩa $p > 0,1$.

Nguyên nhân của sự không khác nhau có thể giải thích vì môi trường nước, đất ở nơi thu hái mẫu khá ổn định nên chưa thay đổi nhiều theo mùa thu hoạch.

4. Kết luận

Khi áp dụng phương pháp F-AAS để phân tích lượng vết Zn trong 20 mẫu các bộ phận của cây Mò hoa đỏ thu hoạch ở những vùng khác nhau là không khác nhau, dao động trong khoảng 0,972 – 1,511 mg/L. Phương pháp đường chuẩn đạt giới hạn phát hiện thấp: 0,11 $\mu\text{g/mL}$; giới hạn định lượng là 0,33 $\mu\text{g/mL}$; độ lặp lại tốt với $\text{RSD}\% = 4,31\%$ ($n = 7$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Chasapis, C. T., Ntoupas, P. S. A., Spiliopoulou, C. A. & Stefanidou, M. E. (2020). Recent aspects of the effects of zinc on human health. *Arch Toxicol*, 94, 1443-1460.
- Chi, V. V. (2003). *Từ điển thực vật thông dụng*. Hà Nội: Nxb Khoa học và Kỹ thuật.
- Costa, M. I., Sarmiento-Ribeiro A. B., & Goncalves A. C. (2023). Zinc: from biological functions to therapeutic potential. *Int J Mol Sci.*, 24, 4822-4840.
- Despoina, P. K., Evi, T., Massimiliano, P., Spyros, P. P., Maria, E. S. & Christos, T. C., (2023). Multifunctional role of zinc in human health. *Excli J.* 22, 809-827.
- Ghaedi, M., Niknam K., Shokrollahia, A. & Niknamb, E. (2009). Determination of Cu, Fe, Pb and Zn by Flame-AAS after Preconcentration using Sodium Dodecyl Sulfate Coated Alumina Modified with Complexing Agent". *Journal of the Chinese Chemical Society*, 56, 150-157.
- Hồ, P. H. (1999). *Cây cỏ Việt Nam, quyển 1*. Thành phố Hồ Chí Minh: Nxb Trẻ.
- Kambe, T., Tsuji, T., Hashimoto, A. & Itsumura, N., (2015). The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiol Rev.*, 95, 749-784.

- Khân, N. V. (2007). *Xác định chì trong một số loại rau và quả ở xã Thủy Thanh, Hương Thủy, Thừa Thiên Huế bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử* (Luận văn thạc sĩ Hóa học. Trường Đại học Sư phạm, Đại học Huế).
- Lợi, Đ. T. (1999). *Những cây thuốc và vị thuốc Việt Nam*. Hà Nội: Nxb Y học.
- Luận, P. (2006). *Phương pháp phân tích phổ nguyên tử*. Hà Nội: Nxb Đại học Quốc gia Hà Nội.
- Oanh, H. V. (2012). *Nghiên cứu thành phần hóa học và một số hoạt tính sinh học của cây bạch đồng nữ* (Luận án tiến sĩ Dược học. Trường Đại học Dược Hà Nội).
- Quý, H. V. (2004). *Các phương pháp phân tích công cụ trong hóa học hiện đại*. Hà Nội: Nxb Đại học Sư phạm.

**DETERMINATION OF ZINC IN HERBA CLERODENDRI JAPONICI BY
FLAME ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY**

Phan Ha Nu Diem

Dong Nai University

Email liên hệ: phannudiem@gmail.com

(Received: 02/5/2024, Revised: 20/6/2024, Accepted for publication: 21/6/2024)

ABSTRACT

Herba Clerodendri Japonici is the medicinal plant that contains many trace elements. It grows in many places with different geographies. The trace element Zn is present in flowers, leaves, stems and roots of the Herba Clerodendri Japonici plant determined by flame atomic absorption spectroscopy with concentrations of 0.972 - 1.511 mg/L. Medicinal plants harvested at different times and locations had Zn concentrations not statistically different.

Keywords: Zn, Herba Clerodendri Japonici, F-AAS