

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8427:2010

EN 14546:2005

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH NGUYÊN TỐ VẾT –
XÁC ĐỊNH ASEN TỔNG SỐ BẰNG PHƯƠNG PHÁP
ĐO PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ GIẢI PHÓNG
HYDRUA (HGAAS) SAU KHI TRO HÓA**

*Foodstuffs – Determination of trace elements –
Determination of total arsenic by hydride generation atomic
absorption spectrometry (HGAAS) after dry ashing*

HÀ NỘI – 2010

Lời nói đầu

TCVN 8427:2010 hoàn toàn tương đương với EN 14546:2005;

TCVN 8427:2010 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13
Phương pháp phân tích và lấy mẫu biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo
lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm – Xác định nguyên tố vết –

Xác định asen tổng số bằng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử giải phóng hydrua (HGAAS) sau khi tro hóa

Foodstuffs – Determination of trace elements –

Determination of total arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry (HGAAS) after dry ashing

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng asen tổng số trong thực phẩm bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử giải phóng hydrua (HGAAS) sau khi tro hóa khô.

Đối với những sản phẩm cụ thể đã có tiêu chuẩn riêng thì sẽ áp dụng tiêu chuẩn đó. Các nhà phân tích cần xem xét thêm về việc áp dụng các tiêu chuẩn cụ thể đó.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

EN 13804, *Foodstuffs – Determination of trace elements – Performance criteria, general considerations and sample preparation* (Thực phẩm – Xác định nguyên tố vết – Chuẩn cứ thực hiện, xem xét chung và chuẩn bị mẫu).

3 Nguyên tắc

Các mẫu được xử lý bằng axit nitric cùng với chất hỗ trợ tro hóa được làm bay hơi đến khô, sau đó được khoáng hóa ở 425 °C với nhiệt độ tăng dần. Tro được hòa tan trong axit clohydric và asen được định lượng bằng kỹ thuật HGAAS tại vạch asen ở 193,7 nm [1].

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn sức khỏe thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

4 Thuốc thử

4.1 Yêu cầu chung

Nồng độ của các asen trong thuốc thử và nước được sử dụng phải đủ thấp để không làm ảnh hưởng đến các kết quả xác định.

4.2 Axit clohydric

4.2.1 Axit clohydric, không nhỏ hơn 30 % (phần khối lượng), $\rho(\text{HCl}) = 1,15 \text{ g/ml}$.

4.2.2 Axit clohydric loãng, $c (\approx 6 \text{ mol/l})$.

Pha loãng 500 ml axit clohydric (4.2.1) với nước theo tỷ lệ 1 : 1 (phần thể tích).

4.3 Axit nitric, không nhỏ hơn 65 % (phần khối lượng), $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g/ml}$.

4.3.1 Axit nitric loãng 1, 32 % (phần khối lượng)

Chuẩn bị bằng cách trộn hỗn hợp axit nitric (4.3) với nước theo tỷ lệ 1 : 1 (phần thể tích).

4.3.2 Axit nitric loãng 2, 6,5 % (phần khối lượng)

Trộn axit nitric (4.3) với nước theo tỷ lệ 1 : 9 (phần thể tích).

4.3.3 Axit nitric loãng 3, 3,3 % (phần khối lượng)

Trộn axit nitric (4.3) với nước theo tỷ lệ 1 : 19 (phần thể tích).

4.4 Magie oxit, không nhỏ hơn 90 % (phần khối lượng).

4.5 Magie nitrat ngậm sáu phân tử nước, không nhỏ hơn 98 % (phần khối lượng).

4.6 Chất hỗ trợ tro hóa

Hòa 20 g magie nitrat ngậm sáu phân tử nước (4.5) và 2 g magie oxit (4.4) trong 100 ml nước.

4.7 Natri hydroxit, không nhỏ hơn 95 % (phần khối lượng).

4.8 Kali iodua, không nhỏ hơn 99,5 % (phần khối lượng).

4.9 Axit ascorbic, không nhỏ hơn 99,7 % (phần khối lượng).

4.10 Dung dịch khử sơ bộ

Hòa tan 5 g kali iodua (4.8) và 5 g axit ascorbic (4.9) trong 100 ml nước.

4.11 Dung dịch gốc asen, trong axit nitric, với nồng độ khối lượng $\rho(\text{As (V)}) = 1\,000\text{ mg/l}$.

Nên sử dụng dung dịch gốc kèm theo giấy chứng nhận.

4.12 Dung dịch hiệu chuẩn asen

4.12.1 Dung dịch chuẩn trung gian

Chuẩn bị dung dịch chuẩn của 25 $\mu\text{g/l}$ trong HCl (4.2.2) từ dung dịch gốc (4.11).

4.12.2 Chuẩn hiệu chuẩn

Lấy một lượng chuẩn trung gian (ví dụ: 3 ml cho nồng độ cuối cùng là 3 $\mu\text{g/l}$) và thêm HCl (4.2.2) đến 5 ml. Thêm 5 ml dung dịch khử sơ bộ (4.10). Đợi 30 min rồi thêm HCl (4.2.2) đến 25 ml. Chuẩn bị theo cách tương tự đối với ít nhất ba dung dịch chuẩn hiệu chuẩn ở các nồng độ khác nhau cùng với điểm zero của đường chuẩn. Các nồng độ lựa chọn không được vượt ra ngoài dải tuyến tính của đường chuẩn asen.

4.13 Natri bohidrua, không nhỏ hơn 96 % (phần khối lượng).

4.14 Natri hydroxit, không nhỏ hơn 98 % (phần khối lượng).

4.15 Dung dịch natri bohidrua

Nồng độ của dung dịch khử này có thể thay đổi theo hệ thống giải phóng hydrua được áp dụng và các khuyến nghị của các nhà sản xuất trong hướng dẫn sử dụng thiết bị. Lọc dung dịch, nếu cần. Dung dịch này phải được chuẩn bị trong ngày sử dụng.

5 Thiết bị, dụng cụ

5.1 Yêu cầu chung

Để giảm thiểu sự nhiễm bẩn, tất cả các dụng cụ tiếp xúc trực tiếp với mẫu và các dung dịch cần được xử lý sơ bộ cẩn thận theo quy định trong EN 13804.

TCVN 8427:2010

5.2 Lò nung có cài đặt chương trình

Lò nung được gắn bộ vi xử lý hoặc lò nung có bộ ổn nhiệt.

5.3 Máy đo phổ hấp thụ nguyên tử

Được trang bị một cuvet thạch anh được đốt nóng bằng điện và phụ kiện giải phóng hydrua có hoặc không có bơm dòng.

5.4 Đèn asen

Đèn phóng điện không điện cực hoặc catot rỗng.

5.5 Bếp điện hoặc bể cách cát.

Có khống chế nhiệt từng bước.

6 Cách tiến hành

6.1 Xử lý sơ bộ

Đồng hóa mẫu theo EN 13804.

6.2 Phần mẫu thử

Cân một lượng từ 250 mg đến 1000 mg mẫu khô hoặc một lượng tương đương của mẫu tươi vào một cốc có mô cao bằng thủy tinh chịu nhiệt có dung tích tối thiểu 200 ml.

6.3 Tro hóa khô

6.3.1 Quy trình tro hóa

Cứ 250 mg mẫu khô, cho thêm 2,5 ml dung dịch hỗ trợ tro hóa (4.6). Để tránh kết tủa, lắc huyền phù khi cho thêm dung dịch hỗ trợ tro hóa. Sau đó, thêm 5 ml axit nitric (4.3.1) và cho bay hơi trên bể cách cát (5.5) cho đến khi thu được cặn khô. Tăng dần nhiệt độ và tăng từ từ để tránh sôi mạnh, tạo bọt và trào nước hoặc tránh bắn tung tóe.

Đậy cốc thủy tinh có mô bằng mặt kính đồng hồ rồi đặt trong lò nung ở nhiệt độ ban đầu không cao hơn 150 °C. Tăng nhiệt độ đến (425 ± 25) °C với tốc độ tăng tối đa là 50 °C/h và duy trì trong 12 h. Tốc độ tăng nhiệt phải được duy trì ở mức khuyến nghị để tránh hao hụt mẫu. Lấy chén nung ra khỏi lò nung và để nguội.

Lặp lại quy trình tro hóa cho đến khi mẫu được thiêu cháy hoàn toàn. Để thực hiện bước này thêm 5 ml axit nitric (4.3.2), cho bay hơi trên bể cách cát rồi đặt lại tro trong lò nung, nghĩa là tro cần có màu trắng/xám hoặc có màu sáng (số lần nung lặp lại phụ thuộc vào loại mẫu).

6.3.2 Hòa tan tro của mẫu

Thêm 1 ml nước để làm ướt tro và sau đó thêm 5 ml axit clohydric (4.2.2) vào chén nung, đảm bảo rằng tất cả tro được tiếp xúc với axit. Sau đó, thêm 5 ml chất khử sơ bộ (4.10). Đợi 30 min rồi thêm axit clohydric loãng (4.2.2) đến 25 ml.

Lọc các mẫu trước khi pha loãng đến thể tích yêu cầu, nếu cần. Bộ lọc phải được khử nhiễm bằng cách rửa trước với axit nitric (4.3.3) và rửa tiếp hai lần bằng nước đã khử ion. Mẫu sau khi lọc, để tránh hao hụt, thì rửa bộ lọc bằng axit clohydric (4.2.2) và cho phần nước rửa vào dung dịch trước khi pha loãng đến thể tích yêu cầu như trên.

Xử lý ba mẫu trắng thuốc thử theo cách tương tự như đối với mẫu.

Các dung dịch mẫu có thể ổn định 24 h khi được bảo quản ở 4 °C.

6.4 Đo phổ hấp thụ nguyên tử giải phóng hydrua (HGAAS)

6.4.1 Điều kiện của máy đo phổ

Tối ưu hóa thiết bị theo các khuyến cáo trong bản hướng dẫn sử dụng của thiết bị. Lấy các số đọc tại bước sóng 193,7 nm.

6.4.2 Kỹ thuật giải phóng hydrua

6.4.2.1 Yêu cầu chung

Một số nguyên tố nhất định (ví dụ: Co, Cu, Cr, Fe, Mg, Ni, Sb, Sn và Se) có thể gây cản trở việc giải phóng hydrua. Các nhiễu này được hạn chế hoặc loại bỏ, khi mẫu được pha loãng trong axit clohydric loãng (4.2.2). Nếu phải pha loãng mẫu tiếp, thì thực hiện với axit clohydric loãng (4.2.2). Khẳng định việc không có ảnh hưởng của chất nền hoặc không có cản trở của nguyên tố liên quan bằng cách kiểm tra xác nhận rằng không có sự sai khác nhiều về độ dốc của hàm hiệu chuẩn trong trường hợp thêm chuẩn. Nếu vẫn còn ảnh hưởng của chất nền thì sử dụng phương pháp thêm chuẩn.

6.4.2.2 Phương pháp thêm chuẩn

Xác định dải tuyến tính của hàm số hiệu chuẩn chuẩn. Điều quan trọng là các phép đo được thực hiện trong dải tuyến tính khi sử dụng phương pháp thêm chuẩn. Đường chuẩn của phương pháp thêm chuẩn phải có ít nhất ba điểm của ít nhất hai dung dịch thêm chuẩn. Nồng độ của dung dịch chuẩn cao nhất phải gấp từ 3 lần đến 5 lần nồng độ của dung dịch mẫu. Nồng độ của dung dịch chuẩn thấp hơn gần bằng một nửa nồng độ dung dịch chuẩn cao nhất.

Dùng đồ thị dựa trên các độ hấp thụ thu được theo các nồng độ của dung dịch bổ sung và ngoại suy đường thẳng tạo thành cho đến khi cắt với trục hoành của đồ thị.

7 Tính toán kết quả

Tính hàm lượng, w , asen tổng số, tính bằng miligam trên kilogam mẫu, theo công thức (1) sau đây:

$$w = \frac{a \times V \times F}{m \times 1000}$$

trong đó

a là nồng độ của nguyên tố cần xác định có trong dung dịch thử đã sử dụng, tính bằng microgam trên lit ($\mu\text{g/l}$);

V là thể tích dung dịch mẫu thử, tính bằng mililit (ml);

F là hệ số pha loãng có tính đến việc khử sơ bộ và mọi độ pha loãng trong trường hợp nồng độ của nguyên tố cao;

m là khối lượng ban đầu của phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

Nếu nồng độ trong các dung dịch trắng thấp hơn giới hạn định lượng của phương pháp, thì không cần phải đưa vào phần tính kết quả. Nếu cần, lấy nồng độ của dung dịch thử trừ đi nồng độ của dung dịch mẫu trắng.

8 Độ chụm

8.1 Yêu cầu chung

Các chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và các chất nền khác với các dải nồng độ và các chất nền đã nêu.

8.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ độc lập, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành trên vật liệu thử giống hệt nhau trong một phòng thử nghiệm, do một người thực hiện sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, trong không quá 5 % các trường hợp vượt quá các giá trị giới hạn lặp lại r nêu trong Bảng 1.

8.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu giống hệt nhau trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do các người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, trong không quá 5 % các trường hợp vượt quá các giá trị giới hạn tái lập R nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Các giá trị trung bình của giới hạn lặp lại và giới hạn tái lập

Mẫu	$\bar{x}$ (mg/kg)	r (mg/kg)	R (mg/kg)
Lá rau chân vịt (SRM 1570a, NIST)	0,088	0,058	0,109
Tuyến tụy tôm hùm (TORT-2, NRCC)	18,6	2,5	10,5
Gan cá nhám (DOLT-2, NRCC)	14,6	3,8	7,3
Bột gạo (GBW8502, Trung Quốc)	0,056	0,018	0,032
Bột mì (GBW8503, Trung Quốc)	0,196	0,039	0,080

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- kết quả thử thu được và đơn vị đo;
- ngày lấy mẫu và qui trình lấy mẫu (nếu biết);
- ngày kết thúc phân tích;
- nếu phải kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được;
- mọi chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường khác có thể ảnh hưởng tới kết quả.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Kết quả thử liên phòng thử nghiệm

Độ chụm của phương pháp do Nhóm Công tác AEN/CTN34/GT1 "Trace elements (heavy metals)" của viện Tiêu chuẩn hóa của Tây Ban Nha (AENOR) thiết lập năm 2000. Phương pháp này đã kiểm tra xác nhận trong phép thử liên phòng thử nghiệm [1] và đã được đánh giá theo TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994). Kết quả thống kê được nêu trong Bảng A.1. Các giá trị đã đánh giá xác nhận được nêu trong Bảng A.2.

Bảng A.1 – Kết quả thống kê của các phép thử liên phòng thử nghiệm

Các thông số	Lá rau chân vịt	Tuyến tụy tôm hùm	Gan cá nhám	Bột gạo	Bột mì
Số phòng thử nghiệm	10	10	10	10	10
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	8	8	10	9	9
Số ngoại lệ	2	2	0	1	1
Giá trị trung bình $\bar{x}$, mg/kg	0,088	18,6	14,6	0,056	0,196
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	0,021	0,9	1,3	0,007	0,014
RSD_r , %	23,6	4,8	9,2	11,7	7,1
Giới hạn lặp lại r , mg/kg	0,058	2,5	3,8	0,018	0,039
Trị số Horwitz r	15	7	7	16	14
Chỉ số Horrat, r	1,53	0,7	1,3	0,71	0,52
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	0,039	3,8	2,6	0,011	0,028
RSD_R , %	44,4	20,3	17,8	20,1	14,5
Giới hạn tái lập R , mg/kg	0,109	10,5	7,3	0,032	0,080
Trị số Horwitz R	23	10	11	25	20
Chỉ số Horrat R	1,93	2,0	1,7	0,81	0,71

**Bảng A.2 – Chất chuẩn đã được chứng nhận, đánh giá tỷ số Z của các giá trị
tìm thấy dựa vào các giá trị đã chứng nhận**

Chất chuẩn đối chứng	Giá trị trung bình tìm thấy mg/kg	n	SR	Giá trị trung bình đã chứng nhận mg/kg	Khoảng tin cậy 95 %	Tỷ số Z ^a
Lá rau chân vịt (SRM 1570a, NIST)	0,088	8	0,039	0,068	0,012	1,3
Tuyến tụy của tôm hùm (TORT-2, NRCC)	18,6	8	3,8	21,6	1,8	-1,9
Gan cá nhám (DOLT-2, NRCC)	14,6	10	2,6	16,6	1,1	-2,0
Bột gạo (GBW8502, Trung quốc)	0,056	9	0,011	0,051	0,005	1,1
Bột mì (GBW8503, Trung quốc)	0,196	9	0,028	0,22	0,04	-1,1
^a Tỷ số Z phù hợp với quy trình NMKL No 9 [2].						

Thư mục tài liệu tham khảo

TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo - Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn*

- [1] Arbitral Agroalimentary Laboratory (General Subdirectorate of the Quality Foodstuffs Control, Ministry of Agriculture Fisheries and Food) in collaboration with the Institute of Agrochemistry and Food Technology (Spanish Scientific Research Council). The results obtained are collected in the document AEN/CTN 34/SC4/GT1/Nº 28.
 - [2] NMKL Procedure No 9. Evaluation of results derived from the analysis of certified reference materials. (2001). Nordic Committee on Food Analysis. C/o National Veterinary Institute, Box 8156 Dep. 0033 Oslo, Norway.
-