

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9525:2012

EN 13805:2002

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – PHÂN HỦY MẪU BẰNG ÁP LỰC  
ĐỂ XÁC ĐỊNH CÁC NGUYÊN TỐ VẾT**

*Foodstuffs – Determination of trace elements – Pressure digestion*

HÀ NỘI – 2012

## Lời nói đầu

TCVN 9525:2012 hoàn toàn tương đương với EN 13805:2002;

TCVN 9525:2012 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 – Phân hủy mẫu bằng áp lực để xác định các nguyên tố vết

*Foodstuffs – Determination of trace elements – Pressure digestion*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp phân hủy mẫu thực phẩm bằng áp lực để xác định các nguyên tố vết. Phương pháp này đã được thử nghiệm kết hợp với kỹ thuật hấp thụ nguyên tử (ngọn lửa, lò graphit, hydrua hóa, hóa hơi lạnh), phổ khối lượng plasma cảm ứng cao tần (ICP-MS). Kỹ thuật quang phổ phát xạ nguyên tử plasma cảm ứng cao tần (ICP-OES) và kỹ thuật đo điện áp có thể được dùng kết hợp với các chuẩn đo lường để so sánh với phương pháp này.

### 2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. 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, bổ sung (nếu có).

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

### 3 Nguyên tắc

Vô cơ hóa mẫu bằng phương pháp lý hóa phân hủy dưới áp lực quy định trong tiêu chuẩn này và chuẩn bị dung dịch thử chứa các nguyên tố vết trước khi xác định chúng theo các tiêu chuẩn có viện dẫn đến phương pháp này và đã được đánh giá xác nhận khi kết hợp phương pháp này.

Mẫu được đồng hóa trong thiết bị có mức nhiễm bản thấp, sau đó mẫu được phân hủy trong lọ kín đựng trong bình áp lực ở nhiệt độ và áp suất cao theo nhiệt độ quy định hoặc lò vi sóng [1], [2], [3].

## 4 Thuốc thử

### 4.1 Yêu cầu chung

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

**4.2 Axit nitric**, không nhỏ hơn 65 % (khối lượng), có tỷ trọng  $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4$  g/ml. Trong trường hợp chưa đủ độ tinh khiết, thì cần tinh sạch axit trong thiết bị chưng cất (5.5).

**4.3 Axit nitric loãng**, được chuẩn bị bằng cách trộn axit nitric (4.2) và nước với tỷ lệ nhỏ nhất 1 + 9 phần thể tích.

**4.4 Axit clohydric**, không nhỏ hơn 30 % (khối lượng), có tỷ trọng xấp xỉ  $\rho(\text{HCl}) = 1,15$  g/ml.

**4.5 Hydro peroxit**, không nhỏ hơn 30 % (khối lượng)

## 5 Thiết bị, dụng cụ

### 5.1 Yêu cầu chung

Để giảm thiểu sự nhiễm bẩn, làm sạch tất cả các dụng cụ tiếp xúc trực tiếp với mẫu bằng cách xử lý với axit nitric loãng (4.3) rồi bằng nước. Nên dùng thiết bị không có vỏ bọc (5.6) để làm sạch bình hoặc cốc có mỏ.

**5.2 Thiết bị phân hủy bằng áp lực**, có bán sẵn trên thị trường, bình áp lực đã được thử nghiệm về độ an toàn, làm bằng vật liệu chống axit và có bộ phận đựng mẫu bằng vật liệu chống axit có mức nhiễm bẩn thấp. Thiết bị bán sẵn có sử dụng lò nung chịu áp lực cao có hoặc không có nồi hấp áp lực.

Thay vì dùng bộ phận đựng mẫu bằng polytetrafloetylen (PTFE), tốt nhất nên dùng lọ đựng mẫu bằng thạch anh, perfloetylen propylen (FEP) [4], [5] hoặc bằng perflo alkoxy (PFA) được chia vạch. Nên sử dụng lọ đựng mẫu bằng thạch anh để xác định thủy ngân và đối với mẫu có nhiệt độ phân hủy trên 230 °C.

**5.3 Thiết bị gia nhiệt**, có thể kiểm soát nhiệt độ (ví dụ, bộ phận đốt nóng hoặc lò vi sóng).

**5.4 Bể siêu âm**

**5.5 Thiết bị chưng cất**, bằng thủy tinh thạch anh hoặc loại tương đương làm bằng flopolyme có độ tinh khiết cao, theo Hình A.1.

**5.6 Thiết bị không có vỏ bọc**, theo Hình A.2.

## 6 Lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu theo EN 13804.

## 7 Cách tiến hành

### 7.1 Yêu cầu chung

Ở từng giai đoạn của phương pháp, cần thực hiện các bước sao cho đảm bảo rằng càng ít bị nhiễm bẩn càng tốt.

**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 đưa ra được 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 thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

Cần lưu ý rằng, việc phân hủy các vật liệu giàu cacbon (ví dụ cacbohydrat, chất béo, v.v..) có thể gây nổ.

Trước khi sử dụng thiết bị phân hủy bằng áp lực, đọc sổ tay vận hành và tuân thủ các hướng dẫn về an toàn. Cần đặc biệt chú ý đến mối nguy do khí nitơ đối với nhân viên phòng thử nghiệm.

Các mô tả chi tiết quy trình cần sẵn có trong mỗi phòng thử nghiệm dưới dạng hướng dẫn công việc.

### 7.2 Chuẩn bị mẫu

Chuẩn bị các mẫu theo cách thông thường như khi chuẩn bị thực phẩm ở hộ gia đình. Tránh làm nhiễm bẩn các nguyên tố cần xác định ở mức cao nhất (ví dụ, để xác định crom và nikel, không được dùng dao bằng thép không gỉ trong quá trình chuẩn bị mẫu). Xem EN 13804.

### 7.3 Các điều kiện phân hủy áp lực

#### 7.3.1 Khối lượng mẫu ban đầu và các thể tích axit

Lượng mẫu ban đầu cần phù hợp với dung tích của bình phân hủy, tuân thủ nghiêm ngặt các hướng dẫn của nhà sản xuất về an toàn.

Nếu dung tích, ví dụ 70 ml thì có thể phân hủy được đến 400 mg (chính xác đến miligam) chất khô hoặc đến 4 ml chất lỏng, tương đương với hàm lượng cacbon 200 mg [5]. Nếu hàm lượng cacbon thấp hơn, thì có thể tăng phần mẫu thử. Lượng axit cần để phân hủy phụ thuộc vào bản chất của mẫu thử. Thường 3 ml axit nitric đủ để phân hủy lượng mẫu nói trên. Đối với chất béo thuần khiết, thì có thể cần giảm khối lượng mẫu ban đầu và tăng lượng axit. Có thể bổ sung 0,5 ml đến 1 ml hydro peroxit để tránh dính mẫu lên thành bình phân hủy và mẫu được trộn đều với axit.

## TCVN 9525:2012

**CHÚ THÍCH** Nếu tiếp theo cần xác định sắt, thì có thể cần thêm 0.5 ml axit clohydric (4.4) để tránh làm thất thoát sắt vì hấp phụ lên thành bình

### 7.3.2 Nhiệt độ phân hủy

Xác định nhiệt độ phân hủy cần thiết và sau đó hoàn thành việc phân hủy, tiếp theo sử dụng phương pháp đo (ví dụ, nhiệt độ cao hơn cho lượng cacbon còn lại trong dung dịch phân hủy thấp hơn. Do đó nền trong phép đo ET-AAS và ICP-AES giảm đi. Các chất gây nhiễu trong phép xác định crom bằng ICP-MS được giảm đến mức tối thiểu [6] và không khó để có thể tiến hành các phép đo điện áp.

Nên tăng đều nhiệt độ khi bắt đầu phân hủy.

**CHÚ THÍCH** Nhìn chung, chất lượng của việc phân hủy sẽ trở nên tốt hơn với sự tăng nhiệt độ phân hủy, [7], [8]. Nếu các hợp chất asen hữu cơ có mặt trong thực phẩm, nếu sử dụng HG-AAS cho phép xác định asen [9] tiếp theo, thì có thể cần đến nhiệt độ 320 °C.

### 7.3.3 Thời gian phân hủy

Thời gian phân hủy được khuyến cáo đối với vật liệu mẫu đã được đồng hóa là khoảng 3 h. Trong trường hợp sử dụng hệ thống vi sóng, thì thời gian phân hủy thường từ 15 min đến 30 min. Đối với một số mẫu, việc phân hủy sẽ dễ dàng hơn nếu phản ứng ban đầu được đặt ở nhiệt độ phòng, ví dụ để qua đêm, sau khi bổ sung axit.

### 7.3.4 Làm lạnh

Để giảm áp lực trong bình phân hủy, làm nguội bình áp lực kín gắn với nhiệt độ môi trường.

### 7.3.5 Chuẩn bị dung dịch thử nghiệm

Sau khi bình thủy phân đã nguội và được mở, đặt bình dưới tủ hút khói cho đến khi không nhìn thấy được các khói màu nâu bằng mắt thường. Nên khử khí dung dịch phân hủy trong bể siêu âm. Đổ đầy nước đến thể tích quy định (dung dịch thử nghiệm) và chuyển dung dịch thử nghiệm vào bình thạch anh (được khuyến cáo đối với phép xác định thủy ngân), FEP hoặc PFA.

Dung dịch phân hủy phải trong và có thể tích gần giống như trước khi chưa phân hủy. Khi thể tích bị giảm rõ rệt chứng tỏ rằng bình chịu áp lực không kín và trong trường hợp đó, cần lặp lại quá trình phân hủy.

### 7.3.6 Dung dịch trắng

Để kiểm tra sự nhiễm bẩn, chuẩn bị mẫu trắng thuốc thử chứa cùng một lượng mẫu axit như trong mẫu và thêm nước đến 4 ml (tùy thuộc vào khối lượng mẫu ban đầu), rồi tiến hành tất cả các bước của phương pháp (7.3.1 đến 7.3.5).

### 7.3.7 Mẫu đối chứng

Đối với mục đích kiểm soát phép phân tích, phân tích các mẫu đối chứng đã biết hàm lượng các nguyên tố cần xác định, song song với tất cả các dãy mẫu cần được phân tích, tiến hành tất cả các bước của phương pháp đối với mẫu đối chứng, bắt đầu từ việc phân hủy.

### 7.4 Ví dụ phân hủy bằng lò vi sóng

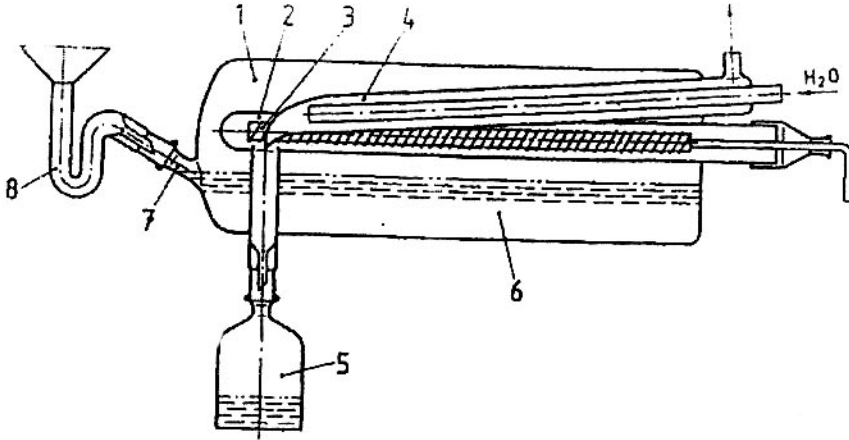
Sử dụng các bình 70 ml đến 100 ml, thì cân từ 1 g đến 2 g thịt hoặc 3 g rau diếp (khối lượng tươi). Thêm 3 ml axit nitric và 0,5 ml hydro peroxit, làm kín bình phân hủy và bộ giữ áp chính xác. Áp dụng năng lượng vi sóng thấp khi bắt đầu phân hủy và tăng dần năng lượng đến công suất tối đa, ví dụ bắt đầu từ 100 W, tăng đến 600 W trong 5 min, giữ trong 5 min, tăng đến 1 000 W, giữ trong 10 min, làm nguội xuống trong ít nhất là 20 min đến 25 min.

### 7.5 Ví dụ về tro hóa ở áp suất cao

Khi sử dụng bình 70 ml, thì cân từ 1 g đến 2 g thịt hoặc 3 g rau diếp (khối lượng tươi). Thêm 3 ml axit nitric, làm kín bình phân hủy và bình áp lực một cách chính xác và nâng từ nhiệt độ phòng đến 150 °C trong 60 min, rồi tăng đến 300 °C trong 40 min và giữ ở 300 °C trong 90 min trước khi làm nguội.

**Phụ lục A**  
(Tham khảo)

**Hình của thiết bị**

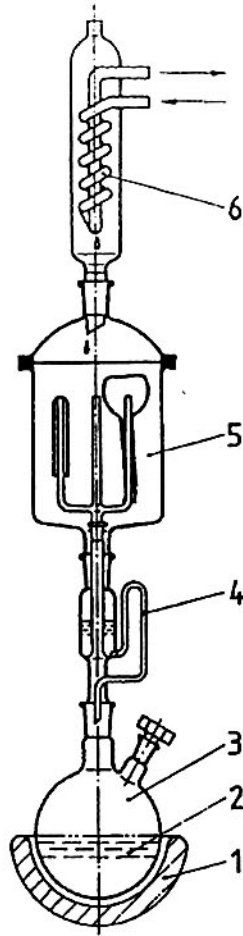


**CHÚ DẪN**

- 1 Buồng chưng cất
- 2 Ống thủy tinh thạch anh
- 3 Sợi đèn gia nhiệt
- 4 Tay cầm nguội
- 5 Lọ chứa axit đã tinh sạch
- 6 Axit được chưng cất
- 7 Bộ phận kết nối
- 8 Phễu nạp

**Hình A.1 – Thiết bị chưng cất bằng thủy tinh thạch anh**



**CHÚ DẪN**

- 1 Bộ phận gia nhiệt
- 2 Axit nitric
- 3 Bình cầu đáy tròn
- 4 Siphon
- 5 Buồng làm bay hơi
- 6 Ống sinh hàn

**Hình A.2 – Thiết bị không có vỏ bọc**

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Knapp, G. Fresenius Z. Anal. Chem., 1984:317 . 213-219.
  - [2] Wurfels, M.; Jackwerth, E. Fresenius Z. Anal. Chem., 1985:322, 354-358.
  - [3] Erickson, B. Anal. Chem., 1998:70, 467 A – 471 A.
  - [4] Hoffmann, J. Fresenius Z. Anal. Chem., 1986: 325, 297.
  - [5] Wurfels, M.; Jackwerth, E.; Stoepler, M. Fresenius Z. Anal. Chem., 1987:329, 459-461.
  - [6] Fecher, P.; Leibenzeder, M.; Zizek, C.; pp 83-90 "Application of Plasma source mass spectrometry II"; Ed. Holland G.; Eaton A.E.; Royal Society of Chemistry, Cambridge 1993.
  - [7] Steeper, M.: Sampling and sample preparation, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1997.
  - [8] Matter, L.: Elementspureanalytik in biologischen matrices; Spektrum Verlag Heidelberg 1997.
  - [9] Fecher, P., Ruhnke, G.: Atomic Spectroscopy, 1998:19 (6), 204-207.
-