

## Lời nói đầu

TCVN 8126 : 2009 thay thế TCVN 1977 : 1988 và TCVN 1979 : 1988  
TCVN 1980: 1988;

TCVN 8126 : 2009 được xây dựng dựa trên cơ sở AOAC 999.10  
*Lead, Cadmium, Zinc, Copper, and Iron in Foods. Atomic Absorption Spectrophotometry after Microwave Digestion.*

TCVN 8126 : 2009 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 chì, cadimi, kẽm, đồng và sắt –

## Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử

### sau khi đã phân huỷ bằng vi sóng

*Foods – Determination of lead, cadmium, zinc, copper, and iron –*

*Atomic absorption spectrophotometry after microwave digestion*

#### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng kẽm, đồng và sắt trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa (FAAS) và xác định hàm lượng cadimi và chì trong thực phẩm bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit (GFAAS), sau khi đã phân huỷ bằng vi sóng.

Tiêu chuẩn này có thể áp dụng để xác định các nguyên tố nói trên với các nồng độ như sau:

- đối với chì:  $\geq 0,1$  mg/kg;
- đối với cadimi:  $\geq 0,01$  mg/kg;
- đối với kẽm:  $\geq 4$  mg/kg;
- đối với đồng:  $\geq 0,2$  mg/kg, và
- đối với sắt:  $\geq 7$  mg/kg.

Tiêu chuẩn này không áp dụng cho các loại thực phẩm có hàm lượng chất béo lớn hơn hoặc bằng 40 % và không áp dụng cho sữa bột.

## 2 Nguyên tắc

Các sản phẩm được phân huỷ bằng axit nitric và hydro peroxit dưới áp suất cao trong lò vi sóng. Dung dịch thủy phân được pha loãng bằng nước. Chì và cadimi được xác định bằng GFAAS. Kẽm, đồng và sắt được xác định bằng FAAS.

## 3 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã loại ion, có điện trở  $\geq 18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ .

**3.1 Axit nitric đậm đặc ( $\text{HNO}_3$ ), 65 % khối lượng.**

**3.2 Axit nitric ( $\text{HNO}_3$ ), 0,1 M**

Pha loãng 7 ml  $\text{HNO}_3$  đậm đặc (3.1) bằng nước đến 1 l.

**3.3 Axit nitric ( $\text{HNO}_3$ ), 3 M**

Pha loãng 200 ml  $\text{HNO}_3$  đậm đặc (3.1) bằng nước đến 1 l.

**3.4 Hydro peroxit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), 30 % khối lượng.**

**3.5 Dung dịch chuẩn gốc**

**CHÚ THÍCH** Có thể dùng các dung dịch chuẩn kim loại có bán sẵn loại dùng cho quang phổ hấp thụ nguyên tử.

**3.5.1 Dung dịch chuẩn kẽm, 1 mg/ml**

Hoà tan 1,000 g kẽm trong 14 ml nước và 7 ml axit nitric (3.1) trong bình định mức 1 000 ml (4.5). Pha loãng bằng nước đến vạch.

**3.5.2 Dung dịch chuẩn đồng, 1 mg/ml**

Hoà tan 1,000 g đồng với 7 ml axit nitric (3.1) trong bình định mức 1 000 ml (4.5). Pha loãng bằng nước đến vạch.

**3.5.3 Dung dịch chuẩn sắt, 1 mg/ml**

Hoà tan 1,000 g sắt với 14 ml nước và 7 ml axit nitric (3.1) trong bình định mức 1 000 ml (4.5). Pha loãng bằng nước đến vạch.

**3.5.4 Dung dịch chuẩn chì, 1 mg/ml**

Hoà tan 1,000 g chì với 7 ml axit nitric (3.1) trong bình định mức 1 000 ml (4.5) và pha loãng bằng nước đến vạch.

### 3.5.5 Dung dịch chuẩn cadimi, 1 mg/ml

Hoà tan 1,000 mg cadimi với 14 ml nước và 7 ml axit nitric (3.1) trong bình định mức 1 000 ml (4.5) và pha loãng bằng nước đến vạch.

### 3.6 Dung dịch chuẩn làm việc

#### 3.6.1 Dung dịch chuẩn làm việc dùng cho phân tích FAAS

Pha loãng dung dịch của các kim loại (từ 3.5.1 đến 3.5.5) với axit nitric 0,1 M (3.2) để có dải chuẩn làm việc bao trùm nồng độ của nguyên tố cần xác định.

#### 3.6.2 Dung dịch chuẩn làm việc dùng cho phân tích GFAAS

Pha loãng dung dịch của các kim loại (từ 3.5.1 đến 3.5.5) với axit nitric 0,1 M (3.2) để có dải chuẩn làm việc bao trùm khoảng tuyến tính của các nguyên tố cần xác định.

## 4 Thiết bị, dụng cụ

**CHÚ THÍCH** Tất cả các dụng cụ bằng thủy tinh và chất dẻo cần phải được rửa và làm sạch kỹ, ví dụ: rửa bằng axit nitric hoặc axit clohydric để tránh nhiễm bẩn kim loại.

a) Làm sạch các dụng cụ thủy tinh và chất dẻo: Trước tiên, rửa bằng nước và chất tẩy rửa, tiếp theo tráng dưới dòng nước chảy, tráng tiếp bằng nước cất, sau đó tráng bằng dung dịch axit nitric loãng [hoà tan 500 ml axit nitric đậm đặc (3.1) với 4 500 ml nước cất]. Cuối cùng tráng 4 lần đến 5 lần bằng nước.

b) Làm sạch bình phân huỷ Teflon: Tráng bình bằng axeton sau đó rửa bằng nước, cho axit nitric 0,1 M (3.2) vào bình và để ít nhất 30 min, tráng bằng nước và để khô bình.

Sử dụng các bình khác nhau cho các ứng dụng khác nhau, phụ thuộc vào nồng độ của các kim loại. Tuy nhiên, nếu dùng cùng một bình phân huỷ cho các sản phẩm nhiễm bẩn nặng, ví dụ: bị đóng cặn thì các bình này cần phải làm sạch vài lần, ví dụ: đun nóng bình cùng với axit nitric đậm đặc (3.1). Thông thường, các thiết bị thường có các hướng dẫn cụ thể về quá trình làm sạch.

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể là:

**4.1 Máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử:** có đầu đốt không khí/axetylen hoặc đầu đốt nitor oxit/axetylen dùng cho phân tích FAAS (xem Phụ lục A) và dùng cho phân tích GFAAS sử dụng nhiệt điện (xem Phụ lục B), có hiệu chỉnh nền (phi hạt nhân) thích hợp.

**4.2 Đèn catot rỗng hoặc đèn phóng điện không điện cực,** loại dùng cho chì, cadimi, kẽm, đồng và sắt.

**4.3 Lò vi sóng,** được thiết kế để dùng trong phòng thử nghiệm, thường xuyên kiểm tra công suất của lò vi sóng. Nếu hiệu quả đo không phù hợp với qui định thì phải điều chỉnh chương trình: Đổ đầy 1,000 ml nước (ở nhiệt độ phòng) vào cốc có mỡ bằng chất dẻo (polypropylen hoặc Teflon) và đo nhiệt

độ ( $T_b$ ). Đưa cốc có mỡ vào lò vi sóng và đun nóng nước ở công suất tối đa trong 2 min. Lấy cốc ra, khuấy nước và đo nhiệt độ ( $T_a$ ). Công suất,  $P$ , tính bằng wat, như sau:

$$P = 35 \times (T_a - T_b)$$

**4.4 Bình phân huỷ Teflon**, dung tích 100 ml, có khả năng chịu được áp suất tối thiểu là 1,4 MPa.

**CẢNH BÁO** – Các bình phân huỷ phải được làm nguội ở thời gian thích hợp trước khi mở để tránh bị bỏng do hơi nóng.

**4.5 Bình định mức**, dung tích 25 ml đến 1 000 ml.

**4.6 Phễu**, bằng thuỷ tinh hoặc chất dẻo.

**4.7 Chai bằng chất dẻo**, ví dụ: chai làm bằng polystyren có nắp đậy kín, dung tích 50 ml đến 100 ml.

**4.8 Tủ sấy hoặc thiết bị đông khô.**

**4.9 Cân phân tích**, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

## 5 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện. Mẫu không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Xem tiêu chuẩn cụ thể có liên quan đến sản phẩm. Nếu chưa có tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm thì các bên có liên quan nên thoả thuận với nhau về vấn đề này.

## 6 Chuẩn bị mẫu

Chuẩn bị mẫu thử theo các tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm.

### 6.1 Xử lý sơ bộ

Nếu sản phẩm khi phân tích ở dạng tươi thì tiến hành đông hoá (xem 6.3) hoặc có thể được sấy khô (xem 6.2).

### 6.2 Sấy

Sấy đến khối lượng không đổi trong tủ sấy (4.8) ở 105 °C, hoặc trong thiết bị đông khô. Việc đông khô thường thích hợp hơn vì nó làm cho sản phẩm ít bị rắn lại và dễ đông hoá. Nếu kết quả cuối cùng tính theo khối lượng tươi thì cân phần mẫu thử trước và sau khi sấy để thu được độ ẩm.

### 6.3 Đồng hoá

Để đồng hoá sản phẩm phải dùng thiết bị không nhiễm bẩn. Kiểm tra các kim loại bị thò ra nếu các dụng cụ đồng hoá có các phần kim loại.

## 7 Cách tiến hành

### 7.1 Phân huỷ

Dùng cân (4.9), cân từ 0,2 g đến 0,5 g mẫu thử dạng khô, chính xác đến 0,1 mg, cho vào bình phân huỷ (4.4). Nếu dùng mẫu thử dạng ướt thì khối lượng tối đa không vượt quá 2 g và hàm lượng chất khô không được vượt quá 0,5 g. Ví dụ: nếu sản phẩm có hàm lượng nước 50 % thì lấy tối đa 1 g (chất khô bằng 0,5 g). Nếu sản phẩm có hàm lượng nước 95 % thì lấy 2 g (chất khô nhỏ hơn 0,5 g).

**CHÚ Ý:** Nếu phân huỷ các sản phẩm chứa hàm lượng chất rắn quá lớn chưa biết rõ thì có thể sẽ làm thủng màng an toàn của bình phân huỷ.

Thêm 5 ml axit nitric (3.1) và 2 ml hydro peroxit (3.4) vào bình phân huỷ. Đậy nắp, đặt bình vào giá đỡ rồi đưa vào lò vi sóng (4.3) rồi đóng cửa lò. Đặt chương trình của lò theo các thông số trong Bảng 1 và bắt đầu phân huỷ.

**Bảng 1 – Các thông số chương trình đối với lò vi sóng**

Bước	Công suất	Khoảng thời gian
	W	min
1	250	3
2	630	5
3	500	22
4	0	15

Chương trình vận hành của lò có hiệu lực khi 12 bình được phân huỷ đồng thời. Nếu chỉ có một số bình được phân huỷ, thì các bình còn lại phải được làm đầy với thuốc thử trắng. Khi dùng một lò vi sóng khác có chương trình khác với các thông số nêu trên thì có thể cần phải sử dụng một chương trình thời gian/công suất có khác đôi chút.

Lấy các bình phân huỷ ra khỏi lò vi sóng (4.3) và để nguội hoàn toàn trước khi mở chúng. Mở bình phân huỷ, tráng nắp đậy và thành bình bên trong. Chuyển dung dịch này sang bình định mức 25 ml (4.5) và pha loãng đến vạch bằng nước đã loại ion. Sau đó, chuyển dung dịch sang bình chất dẻo. Xử lý mẫu trắng giống mẫu thử. Đối với mỗi mẻ cần thực hiện một phép thử trắng.

## 7.2 Pha loãng

Nếu dung dịch thử cần được pha loãng tiếp (do nồng độ kim loại cao) thì pha loãng với axit nitric 3 M (3.3), để duy trì cùng một nồng độ axit thấp trước khi xác định kim loại bằng máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (4.1).

Nồng độ axit cao sẽ không thích hợp về môi trường và làm suy giảm tín hiệu phân tích. Giảm nồng độ axit bằng cách pha loãng một nửa dung dịch thử với axit nitric 0,1 M (3.2) và một nửa dung dịch chuẩn với axit nitric 3 M (3.3). Khi đó dung dịch thử và dung dịch chuẩn sẽ có cùng một nồng độ axit. Nồng độ axit thích hợp rất quan trọng khi sử dụng đường hiệu chuẩn.

## 7.3 Đo quang phổ hấp thụ nguyên tử

Sử dụng kỹ thuật đo FAAS hoặc kỹ thuật đo GFAAS để xác định hàm lượng kim loại cần tìm. Nên sử dụng kỹ thuật FAAS khi có thể, vì kỹ thuật này ít bị nhiễu bởi các chất gây nhiễu hơn so với kỹ thuật GFAAS. Chương trình nhiệt độ hỗn hợp khí, bước sóng và các thông số thiết bị khác thích hợp nhất đối với mỗi loại kim loại thì xem sổ tay được cung cấp cùng thiết bị. Luôn sử dụng hiệu chỉnh nền.

Các phép đo phải nằm trong dải tuyến tính khi sử dụng phương pháp thêm chuẩn. Đường chuẩn này gồm ít nhất là ba điểm, trong đó có ít nhất 2 điểm chuẩn. Nồng độ của chất chuẩn cao nhất cần phải gấp 3 lần đến 5 lần nồng độ dung dịch thử. Nồng độ của chất chuẩn thấp hơn nên ở khoảng một nửa nồng độ chất chuẩn cao nhất. Phương pháp thêm chuẩn được đơn giản hoá là sử dụng đường chuẩn phù hợp với chất nền, có thể áp dụng cho các sản phẩm có cùng chất nền: Dung dịch thử và dung dịch chuẩn được trộn và được sử dụng để tạo đường bổ sung chuẩn. Đường này được tạo song song từ góc tọa độ và được sử dụng như đường chuẩn cho các phép thử và có cùng một tỷ lệ pha loãng. Như vậy đường chuẩn phù hợp với chất nền và dung dịch thử sẽ có cùng nồng độ chất nền. Trong các thiết bị hiện đại nhất, chức năng này được cài sẵn trong phần mềm.

### 7.3.1 Kỹ thuật FAAS

Nồng độ của kẽm, đồng và sắt thường ở mức thích hợp để xác định bằng FAAS. Khi sử dụng đường hiệu chuẩn thì các dung dịch chuẩn và dung dịch thử phải có cùng nồng độ axit.

Vi sắt có thể bị ảnh hưởng nhiều bởi chất nền, do đó nên sử dụng phương pháp thêm chuẩn hoặc các chuẩn phù hợp với chất nền. Khi cho thấy có nhiễu mạnh thì có thể thay thế bằng ngọn lửa oxi hóa axetylen nitơ oxit.

### 7.3.2 Kỹ thuật GFAAS

Kỹ thuật này thường được dùng để xác định chì và cadimi trong thực phẩm. Sử dụng các cuvet nhiệt phân có đế. Vì phương pháp này tạo ra dải pha loãng phân tích khá rộng, nên phương pháp này có thể dùng để xác định đồng.

Nên sử dụng phương pháp thêm chuẩn hoặc các chuẩn phù hợp với chất nền, trừ khi không cần thiết (nghĩa là không có sự khác nhau đáng kể giữa độ dốc của đường hiệu chuẩn của dung dịch chuẩn làm việc tinh khiết và đường bổ sung chuẩn của mẫu thử). Khi sử dụng phương pháp thêm chuẩn thì các phép đo phải nằm trong dải tuyến tính.

Đặt chương trình cho bộ lấy mẫu tự động để phân phối một thể tích mà có thể cho độ hấp thụ càng lớn càng tốt nằm trong dải tuyến tính và tạo ra độ hấp thụ nền không lớn hơn 0,5 đơn vị. Việc bơm nhiều có thể tăng độ hấp thụ ở nồng độ rất thấp. Đánh giá mỗi chất nền mới bằng cách dùng đồ thị sử dụng tro hoá và nguyên tử hoá nhằm tối ưu hoá các thông số của lò graphit.

## 8 Tính và biểu thị kết quả

Tính nồng độ của kim loại trong mẫu thử,  $C$ , biểu thị bằng miligam trên kilôgam (mg/kg), theo công thức (1):

$$C = \frac{(a - b) d_f \times 25}{m} \quad (1)$$

trong đó:

$a$  là nồng độ trong dung dịch thử, tính bằng miligam trên lít (mg/l);

$b$  là nồng độ trung bình trong dung dịch trắng, tính bằng miligam trên lít (mg/l);

$d_f$  là hệ số pha loãng;

$m$  là khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam (g).

Nếu giá trị  $(a - b)$  thấp hơn giới hạn phát hiện (DL) thì  $(a - b)$  được thay bằng DL để tính giới hạn phát hiện trong mẫu thử.

Nếu dung dịch thử đã được pha loãng, thì phải tính cả hệ số pha loãng ( $d_f$ ).

Nếu phần mẫu thử được làm khô và tính kết quả dựa trên khối lượng tươi thì nồng độ của kim loại trong mẫu thử,  $C_{FW}$ , biểu thị bằng (mg/kg), tính được theo công thức (2):

$$C_{FW} = C \times \frac{100 - w}{100} \quad (2)$$

trong đó:

$C$  là nồng độ của kim loại trong mẫu thử đã làm khô, tính bằng miligam trên kilôgam (mg/kg), tính theo công thức (1);

$w$  là hàm lượng nước của phần mẫu thử, tính bằng phần trăm (%), tính theo công thức (3):



$$w = \frac{w_f - w_d}{w_f} \times 100 \quad (3)$$

trong đó:

$w_f$  là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam (g);

$w_d$  là khối lượng của phần mẫu thử sau khi sấy, tính bằng gam (g).

Khi tiến hành phép thử lặp lại thì lấy kết quả trung bình đến 3 chữ số có nghĩa.

## 9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử nghiệm đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có thể ảnh hưởng đến kết quả thử;
- kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu thỏa mãn yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

## Phụ lục A

(Qui định)

### Các thông số của thiết bị dùng cho FAAS

Kim loại	Loại ngọn lửa	Bước sóng nm
Zn	Không khí-axetylen, oxy hoá	213,9
Cu	Không khí-axetylen, oxy hoá	324,7
Fe	Không khí-axetylen, oxy hoá	248,3
Fe <sup>+</sup>	N <sub>2</sub> O-axetylen, oxy hoá	248,3

## Phụ lục B

(Qui định)

### Các thông số của thiết bị dùng cho GFAAS

Kim loại	Bước sóng nm	Nhiệt độ ( $^{\circ}\text{C}$ )/thời gian (s)		Bước làm sạch $^{\circ}\text{C}$
		Bước tro hoá	Bước nguyên tử hoá	
Pb	283,3	650/15-10	1900/0-4	2500
Cd	228,8	350/15-10	1200/0-4	2500

## Phụ lục C

(Tham khảo)

### Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

**Bảng C.1 – Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm**

Kim loại	Mẫu	Nồng độ chất phân tích mg/kg	Giá trị trung bình mg/kg	$n^a$	Ngoại lệ	$s_r$	$s_R$	$RSD_{r1}$ %	$RSD_{R1}$ %	$r_1$	$R$
Chì (GFAAS)	Gan	$\geq 0,1$	0,130	11	1	0,049	0,055	37	42	0,14	0,15
	Cám lúa mì		0,155	12	0	0,088	0,091	57	59	0,25	0,26
	Thực phẩm ăn kiêng		0,394	12	0	0,063	0,098	16	25	0,18	0,27
	Bắp bò		0,398	10	2		0,086		22		0,24
	Cá		0,48	12	0		0,13		27		0,36
	Nấm		1,62	12	0		0,26		16		0,73
Cadimi (GFAAS)	Bắp bò	$\geq 0,01$	0,0124	12	1		0,0034		28		0,0097
	Gan		0,164	13	0	0,025	0,034	15	20	0,070	0,094
	Cám lúa mì		0,171	11	2	0,0078	0,022	4,6	13	0,022	0,063
	Cá		0,211	12	0		0,035		17		0,099
	Nấm		0,482	11	2		0,053		11		0,149
	Thực phẩm ăn kiêng		0,764	12	1	0,050	0,105	6,5	14	0,14	0,294
Kẽm (FAAS)	Cá	$\geq 4$	4,50	12	0		0,41		9,1		1,1
	Sữa bột		35,3	14	0		3,3		9,3		9,1
	Thực phẩm ăn kiêng		47,8	13	1	1,9	2,5	4,0	5,3	5,4	7,1
	Nấm		56,9	14	0		3,0		5,3		8,4
	Cám lúa mì		73,5	13	1	2,5	3,5	3,4	4,8	7,1	9,9
	Bắp bò		147,3	11	3		2,5		1,7		7,0
	Gan		181,9	12	2	2,8	8,8	1,6	4,8	7,9	25

**Bảng C.1 – (kết thúc)**

Kim loại	Mẫu	Nồng độ chất phân tích mg/kg	Giá trị trung bình mg/kg	$n^a$	Ngoại lệ	$s_r$	$s_R$	$RSD_r, \%$	$RSD_R, \%$	$r$	$R$
Đồng (FAAS)	Cá	$\geq 0,2$	0,241	4	0		0,094		39		0,26
	Bắp bò		2,63	6	0		0,17		6,4		0,47
	Cám lúa mì		10,14	10	1	0,44	0,81	4,3	7,9	1,2	2,3
	Nấm		37,7	14	0		2,2		5,7		6,0
	Thực phẩm ăn kiêng		63,42	12	2	0,95	1,9	1,5	3,0	2,7	5,3
	Gan		107,5	14	0	3,3	4,1	3,1	3,8	9,3	12
Sắt (FAAS)	Cá	$\geq 7$	7,4	9	0		1,3		17		3,5
	Bắp bò		75,0	12	0		8,1		11		23
	Nấm		105,5	11	0		7,9		7,5		22
	Cám lúa mì		123,1	12	0	3,9	9,9	3,2	8,1	11	28
	Thực phẩm ăn kiêng		303	10	2	12	18	4,0	5,9	33	50
	Gan		487	12	0	27	31	5,4	6,4	74	88

<sup>a</sup>  $n$  = Số phòng thử nghiệm sau khi đã trừ ngoại lệ. Các giá trị đối với  $s_r$ ,  $RSD_r$ , và  $r$  chỉ có sẵn cho các phép xác định lặp lại hoặc mức độ tách.