

Lời nói đầu

TCVN 7770:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 17239:2004;

TCVN 7770:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F10 *Rau quả và sản phẩm rau quả* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Rau, quả và sản phẩm rau, quả – Xác định hàm lượng arsen

Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử giải phóng hydrua

Fruits, vegetables and derived products – Determination of arsenic content

Method using hydride generation atomic absorption spectrometry

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng arsen trong rau, quả và sản phẩm rau, quả bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử giải phóng hydrua.

CHÚ THÍCH Phương pháp xác định arsen trong rau, quả và sản phẩm rau quả dựa trên phương pháp phân tích chính thức của AOAC (xem [1]).

2 Nguyên tắc

Phân huỷ các chất hữu cơ bằng HNO_3 trong một hệ thống kín. Asen (V) bị khử thành arsen (III) với kali iodua và các hydrua của arsen được giải phóng bởi phản ứng của natri bo hydrua trước khi nguyên tử hóa trong cuvet thạch anh được đốt nóng bằng ngọn lửa. Đo phổ hấp thụ nguyên tử.

3 Thuốc thử

Các thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích và nước được sử dụng là cất hoặc nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có qui định khác.

3.1 Axit nitric, đậm đặc ($\rho_{20} = 1,38 \text{ g/ml}$).

3.2 Axit clohydric, dung dịch 8 mol/l.

Cho 66 ml axit clohydric đậm đặc ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) vào bình định mức một vạch 100 ml và pha loãng bằng nước đến vạch. Trộn đều.

3.3 Axit clohydric, được pha loãng với tỷ lệ 1:1, theo thể tích.

Trộn một phần thể tích axit clohydric đậm đặc ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) với một phần thể tích nước.

3.4 Magie clorua, dung dịch 37,5 mg/ml.

Hòa tan, trong bình định mức một vạch 100 ml, 3,75 g magie oxit bằng cách thêm từ từ khoảng 20 ml dung dịch axit clohydric (3.2) và thêm nước đến vạch. Trộn.

3.5 Magie nitrat, dung dịch 75 mg/ml.

Hòa tan, trong bình định mức một vạch 50 ml, 3,75 g magie oxit với khoảng 30 ml nước. Thêm từ từ khoảng 10 ml dung dịch axit nitric (3.1) và trộn đều. Thêm nước đến vạch.

3.6 Natri bo hydrua, dung dịch 4 %.

Hòa tan, trong bình định mức một vạch 100 ml, 4 g NaBH_4 trong 4 % natri hydroxit. Trộn và thêm natri hydroxit 4 % đến vạch.

3.7 Kali iodua, dung dịch 20 %.

Hòa tan, trong bình định mức một vạch 100 ml, 20 g kali iodua bằng nước. Trộn và thêm nước đến vạch. Chuẩn bị dung dịch này trước khi sử dụng.

3.8 Asen, dung dịch chuẩn tương đương với 1,0 mg asen trên mililit.

4 Thiết bị, dụng cụ

Tráng rửa tất cả các dụng cụ thủy tinh trước khi sử dụng bằng dung dịch axit nitric (đã pha loãng với tỷ lệ 1:1), sau đó tráng kỹ bằng nước.

Khử nhiễm các bình thủy phân bằng cách luộc trong thuốc thử sẽ được sử dụng trong thủy phân. Tráng kỹ bằng nước.

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

4.1 Máy nghiền cơ, có lớp lót và các lưỡi dao được phủ polytetrafluoroetylen (PTFE).

4.2 Máy đo phổ hấp thụ nguyên tử, có đầu đốt không khí/axetylen (10 cm) và ngọn lửa cấp khí hydro-nitơ, thích hợp đo ở bước sóng 193,7 nm và có bộ phận hiệu chỉnh nền ngọn lửa hồ quang doteri.

4.3 Bình phân huỷ, 70 ml (xem hình A.1), có vành được phủ bằng lớp PTFE, đặt trong lớp vỏ bằng thép không gỉ có nắp xoáy mà có lớp lót PTFE để tạo tấm gioăng PTFE làm kín bề mặt.

Một ống PTFE được thả phía ngoài nẹp cho phép chuyển lượng dịch phân huỷ mà không tiếp xúc với phần kim loại.

4.4 Tủ sấy, có khả năng duy trì nhiệt độ ở 150 °C.

4.5 Lò nung, có khả năng duy trì nhiệt độ ở 450 °C.

4.6 Bình hoá hơi hydrua, (xem hình A.2), gồm có:

4.6.1 Bình cầu đáy bằng, thủy tinh bo silicat, dung tích 50 ml.

4.6.2 Nút, loại 2 lỗ (một lỗ nằm ở chính giữa), nút cao su số 9, có một ống dẫn khí ra làm từ vật liệu polyetylen, chiều dài 100 mm có đường kính trong 3,2 mm, lắp khít qua lỗ chính giữa.

4.6.3 Bộ cốc chứa thuốc thử, gồm một ống nghiệm polyetylen 25 mm đặt ở đáy có lỗ ở phía dưới, một ống dẫn khí ra được lắp qua lỗ này sao cho đầu ống nhô ra 3 mm so với phần đáy dưới của ống nghiệm.

Lắp đầu kia của ống thoát vào máy đo phổ hấp thụ nguyên tử (4.2) vào ống Tygon¹⁾ 500 mm bằng cách cắt đường phụ khoảng 75 mm từ không gian trộn và nối hệ thống ống.

4.6.4 Ống dẫn khí nitơ, được tạo ra bằng cách gắn xi chặt phần đáy cùng của đoạn ống polyetylen lắp vào lỗ thứ hai trên nút có chiều dài 75 mm và đường kính trong 3,2 mm, với một đầu đốt và sau đó dùng kim cỡ 21 tạo vài lỗ trên đáy đã gắn xi. Cách khác, chuẩn bị đoạn ống polyetylen dài 500 mm có đường kính trong 1,3 mm theo cách tương tự, được gắn chặt vào vị trí trên nút với vách ngăn xuyên qua lỗ.

4.6.5 Khung của bình tạo khí (tùy chọn), bao gồm một đoạn ống dài 64 mm, đường kính trong 1,3 mm, giữ chặt bằng tay kẹp vòng của giá đỡ vòng phòng thử nghiệm. Lắp thêm một kẹp vòng vào trong ống và nối với vòng kẹp khác với phía sau nó để giữ vòng kẹp ở đúng vị trí và dùng như là một tay cầm. Vòng kẹp đã có thể quay tự do 180°.

Nối nút cao su của bình tạo khí hydrua vào kẹp vòng thêm bằng dây kim loại cứng và vị trí vừa ở mặt phẳng của giá kẹp. Khi vận hành, đặt bình tạo khí vào giữa giá đỡ, lắp chặt nút vào cổ bình, sau đó xiết chặt giá kẹp xung quanh cổ bình. Thiết bị này có thể lật ngược nhanh và đều bằng cách quay tay cầm trên kẹp vòng, qua đó mẫu và natri bo hydrua được trộn nhanh và có thể lặp lại.

4.7 Pipet, dung tích thích hợp.

4.8 Bình định mức một vạch, dung tích 10 ml, 50 ml và 200 ml.

¹⁾ Tygon là tên thương mại của sản phẩm. Thông tin này chỉ nhằm cung cấp sự thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không tạo ra sự xác nhận cho sản phẩm này.

4.9 Cân phân tích.

5 Lấy mẫu

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và không bị hư hỏng hoặc biến đổi trong suốt quá trình vận chuyển và bảo quản.

6 Cách tiến hành

6.1 Chuẩn bị mẫu thử

Trộn kỹ mẫu phòng thử nghiệm. Nếu cần, trước hết loại bỏ hạt, vỏ cứng của hạt và cho mẫu phòng thử nghiệm qua máy nghiền cơ (4.1).

Cho sản phẩm lạnh đông hoặc lạnh đông sâu tan băng trong bình kín và chuyển toàn bộ nước tan ra vào máy trộn.

6.2 Phần mẫu thử

Cân 0,3 g mẫu thử (6.1) (tính theo chất khô), chính xác tới 0,01 g, cho vào bình phân hủy (4.3).

6.3 Phân hủy

CẢNH BÁO – Không được vượt quá quy định của nhà sản xuất là 0,3 g chất rắn trong bình 70 ml. Phải thận trọng khi sử dụng các ứng dụng mới hoặc chưa được thử nghiệm. Để yên mẫu với axit nitric (3.1) qua đêm hoặc đun nóng cẩn thận trên bếp điện cho đến khi bắt đầu sôi mạnh. Sau đó tiến hành với bình phân hủy đậy kín. Mở bình trong tủ hút vì nitơ oxit sẽ được giải phóng.

Nếu phần mẫu thử có chứa etanol, thì loại bỏ etanol bằng cách cho bay hơi. Thêm 5 ml axit nitric (3.1), đậy nắp bình và đun khoảng 2 h ở 150 °C trong tủ (4.4).

Để nguội trong tủ hút, lấy bình ra khỏi tủ, và chuyển hết sang bình định mức 10 ml (4.8).

Thêm 4 ml nước vào bình, đậy nắp, lật ngược bình vài lần trong khi nắp vẫn đậy kín và cho nước tráng vào bình.

Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn đều.

6.4 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng sử dụng cùng quy trình phân hủy (6.3), nhưng thay phần mẫu thử (6.2) bằng 1 ml nước.

6.5 Xác định

6.5.1 Dụng đường chuẩn

Pha loãng dung dịch asen chuẩn (3.8) với nước để thu được năm dung dịch với nồng độ asen tương ứng là 1 µg/ml, 2 µg/ml, 3 µg/ml, 4 µg/ml hoặc 5 µg/ml.

Thêm 2,0 ml dung dịch magie clorua (3.4) vào mỗi bình trong dãy sáu bình định mức một vạch 50 ml (4.8). Thêm 50 µl của các dung dịch chuẩn có nồng độ asen là 1 µg/ml, 2 µg/ml, 3 µg/ml, 4 µg/ml hoặc 5 µg/ml vào bình số hai đến bình số sáu.

Sáu bình này chứa tương ứng 0 µg, 0,05 µg, 0,10 µg, 0,15 µg, 0,20 µg hoặc 0,25 µg asen. Tùy thuộc vào độ nhạy của hệ thống yêu cầu mà có thể sử dụng các hàm lượng asen khác.

Thêm 0,1 ml dung dịch kali iodua (3.7) vào mỗi bình, trộn và để yên trong ít nhất 2 min.

Nối bình tạo khí (4.6) vào thiết bị (4.2) và điều chỉnh áp suất và lưu lượng như trong bảng 1. Vận hành thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất, với đèn ở đúng vị trí và tốc độ máy ghi đặt ở 20 mm/min.

Thêm 2,0 ml dung dịch natri bo hydrua (3.6) vào cốc thuốc thử của bình tạo khí và lắp nút cao su khít vào cổ bình chứa dung dịch chuẩn.

Đảo ngược từng bình nhẹ nhàng, nhanh, trộn dung dịch với dung dịch chuẩn. (Thao tác này phải được thực hiện nhiều lần). Một pic độ hấp thụ nhọn, rõ nét sẽ xuất hiện ngay.

Khi bút ghi trở lại đường nền, tháo bỏ nút ra khỏi bình và tráng cốc thuốc thử bằng nước từ bình tia; sau đó hút nước ra.

Tiếp tục với dung dịch chuẩn tiếp theo. Khi kết thúc dãy dung dịch chuẩn, tráng kỹ dụng cụ thủy tinh.

Dụng đường chuẩn theo nồng độ asen dựa vào độ hấp thụ, biểu thị theo microgam.

Bảng 1 – Tốc độ dòng và áp suất để xác định asen

Khí	Áp suất kPa		Tốc độ dòng l/min
	Bình, Ψ_T	Hộp điều khiển AA, Ψ_C	
H ₂	140	70	4
N ₂	280	210	10

6.5.2 Đo phổ

Dùng pipet lấy dịch lỏng của mẫu đã phân hủy (6.3) hoặc mẫu trắng (6.4) cho vào bình (4.6.1) và thêm 1 ml dung dịch magie nitrat (3.5). Đun trên bếp điện ở nhiệt độ thấp cho khô hẳn; sau đó tăng tới nhiệt độ đến nhiệt độ tối đa (khoảng 375 °C). Đặt bình vào lò nung (4.5) ở nhiệt độ 450 °C để oxi hóa hết các hợp chất cacbon và để phân hủy magie nitrat dư trong thời gian trên 30 min. Để nguội, hòa tan phần cặn trong 2,0 ml dung dịch axit clohydric (3.2). Sau đó, thêm 0,1 ml dung dịch kali iodua (3.7) và để yên ít nhất là 2 min.

Nối bình tạo khí (4.6) vào thiết bị (4.2), điều chỉnh áp suất và lưu lượng như bảng 1 và tiếp tục tiến hành như quá trình chuẩn bị đường chuẩn (6.5.1).

Đọc hàm lượng asen của mẫu thử hoặc mẫu trắng từ đường chuẩn (6.5.1).

7 Tính toán

Hàm lượng asen trong mẫu thử, w , tính bằng miligam trên kilogram sản phẩm, được tính theo công thức sau đây:

$$w = \frac{m_1 - m_2}{m_0}$$

trong đó

m_1 là khối lượng asen trong phần mẫu thử đọc từ đường chuẩn, tính bằng microgam;

m_2 là khối lượng asen trong dung dịch trắng đọc từ đường chuẩn, tính bằng microgam;

m_0 là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam.

8 Độ chụm

8.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Chi tiết các phép thử liên phòng thử nghiệm và phương pháp được nêu trong phụ lục B. Các giá trị thu được từ những phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng được với dải nồng độ và các chất nền khác với những dữ liệu cho trong phụ lục B.

8.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp trên vật liệu thử giống hệt nhau trong cùng một phòng thử nghiệm do một người thực hiện

sử dụng cùng thiết bị thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5% trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại r nêu trong bảng B.1.

8.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp trên vật liệu thử giống hệt nhau trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do các người khác nhau thực hiện, sử dụng thiết bị khác nhau, không quá 5% trường hợp vượt quá giới hạn tái lập R nêu trong bảng B.1.

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 cùng với 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;

Chú giải

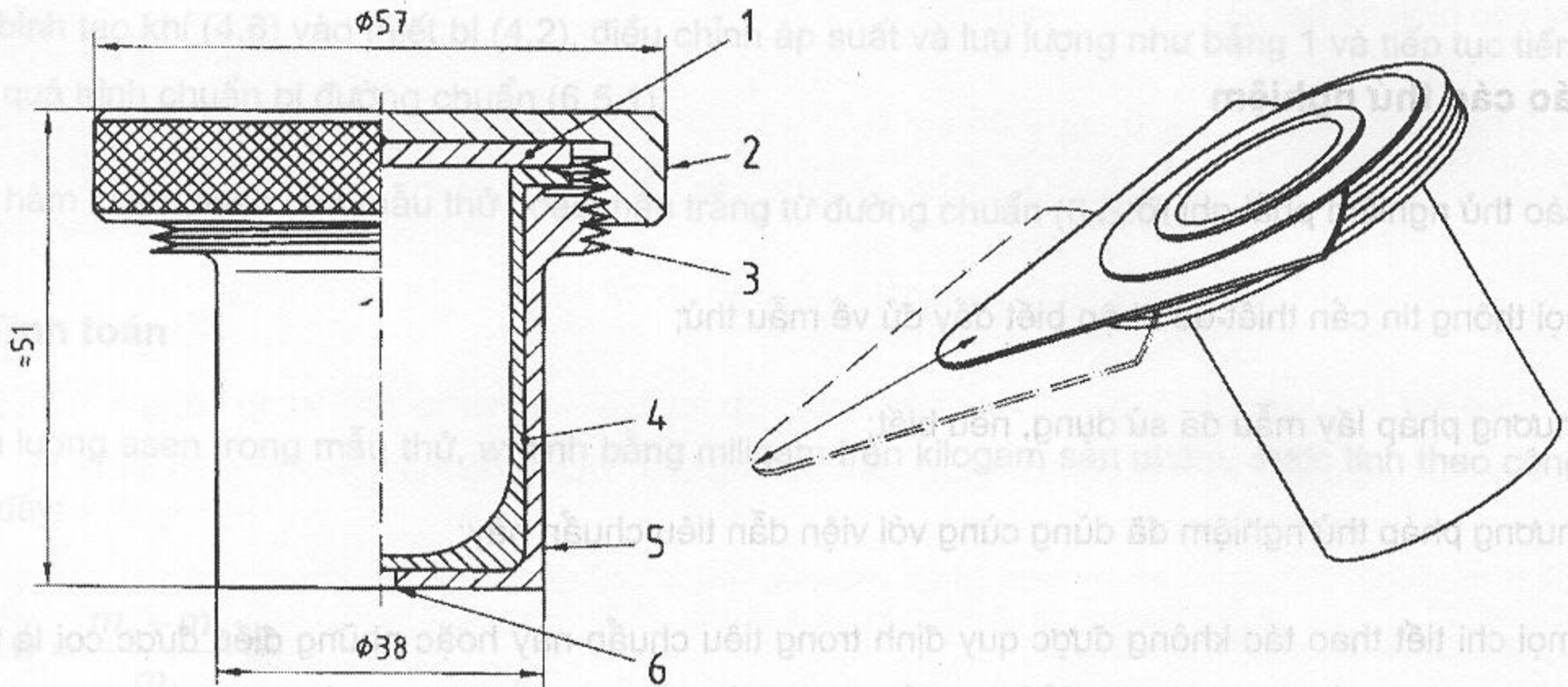
- kết quả thu được, nếu thoả mãn yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

1. Ống polyetylen

Phụ lục A

(Quy định)

Thiết bị, dụng cụ

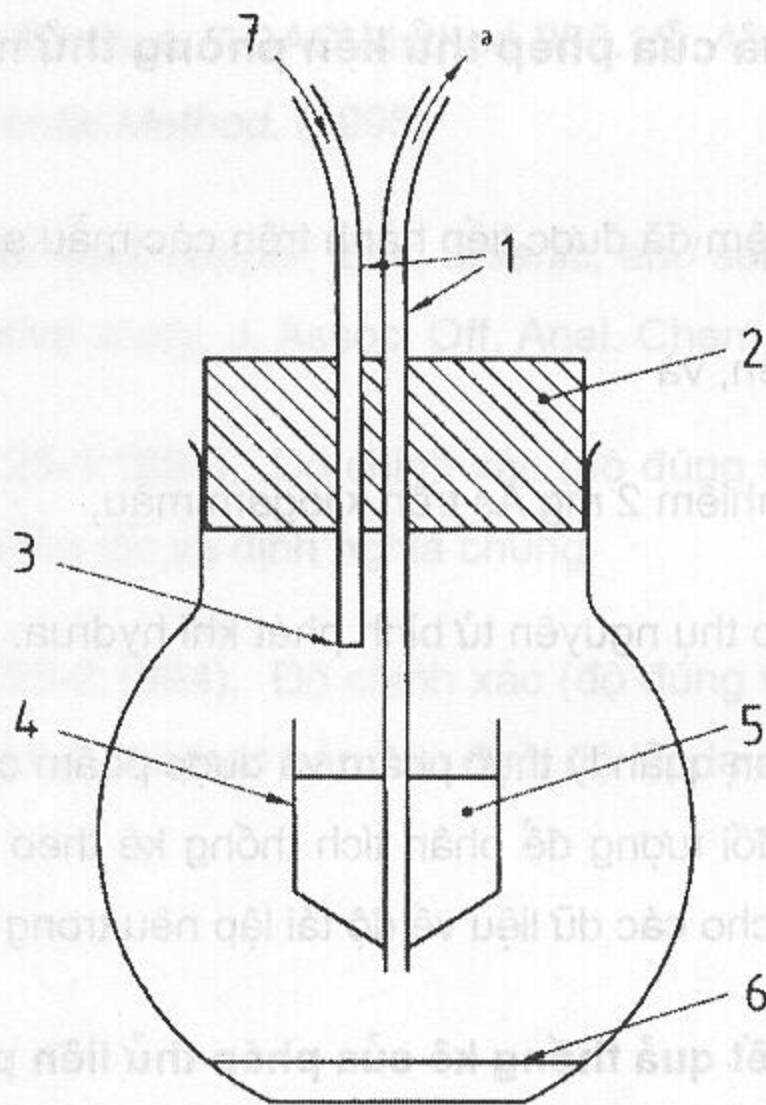


Chú giải

- 1 Đĩa gioăng teflon²⁾
- 2 Nắp xoáy bằng thép không gỉ CRES 304
- 3 M 56x3
- 4 Chén nung teflon
- 5 Thân bằng thép không gỉ CRES 304
- 6 Lỗ thoát

Hình A.1 – Bình phân hủy

²⁾ Teflon là tên thương mại của sản phẩm. Thông tin này chỉ nhằm cung cấp sự thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không tạo ra sự xác nhận cho sản phẩm này.



Bảng B.1 – Các kết quả thử nghiệm liên phòng thử nghiệm

Chú giải	Mẫu nước sốt táo đã lọc		Thông số
	A – tự nhiên	B – đã bị nhiễm 2 mg/kg As	
1 Ống polyetylen	7	7	Số lượng các phòng thử nghiệm được công nhận
2 Nút cao su	13	13	Số lượng các kết quả được công nhận
3 Ống polyetylen gắn xi chống lửa có đục lỗ ở đầu thấp hơn			Giá trị trung bình, mg/kg
4 Cốc đựng thuốc thử	0,007	0,007	Bộ lọc chuẩn lặp lại, s, mg/kg
5 Dung dịch natri bo hydrua	20,9	20,9	Hệ số biến thiên độ lặp lại, %
6 Dung dịch mẫu	0,020	0,020	Giới hạn lặp lại, r (2,8 s), mg/kg
7 Nitơ vào từ đường phụ của máy đo phổ hấp thụ nguyên tử	0,020	0,020	Bộ lọc chuẩn lặp lại, s, mg/kg
	52,7	52,7	Hệ số biến thiên độ tái lặp, %
	0,020	0,020	Giới hạn lặp lại, R (2,8 s), mg/kg

^a Ra máy phổ hấp thụ nguyên tử

Hình A.2 – Bình tạo khí hydrua

Phụ lục B

(Tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Một phép thử liên phòng thử nghiệm đã được tiến hành trên các mẫu sau đây:

Mẫu A: nước sốt táo lọc tự nhiên, và

Mẫu B: nước sốt táo lọc đã bị nhiễm 2 mg As trên kilogam mẫu,

sử dụng phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử bình phát khí hydrua.

Phép thử được tổ chức bởi Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm của Mỹ vào năm 1980 (xem [2]) và các kết quả thu được dùng làm đối tượng để phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) ^[3] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) ^[4] để cho các dữ liệu về độ tái lập nêu trong Bảng B.1.

Bảng B.1 – Các kết quả thống kê của phép thử liên phòng thử nghiệm

Thông số	Mẫu nước sốt táo đã lọc	
	A – tự nhiên	B – đã bị nhiễm 2 mg/kg As
Số lượng các phòng thử nghiệm được công nhận	7	7
Số lượng các kết quả được công nhận	13	14
Giá trị w trung bình, mg/kg	0,034	1,935
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	0,007	0,174
Hệ số biến thiên độ lặp lại, %	20,9	9,01
Giới hạn lặp lại, r ($2,8 s_r$), mg/kg	0,020	0,488
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	0,020	0,287
Hệ số biến thiên độ tái lập, %	55,7	14,8
Giới hạn tái lập, R ($2,8 s_R$), mg/kg	0,056	0,804

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] AOAC Official Methods for Analysis. AOAC Method 986.15: *Arsenic, Cadmium, Lead, Selenium, and Zinc in Food. Multielemental Method.* (1995)
- [2] Holak W. *Analysis of foods for lead, copper, zinc, arsenic, and selenium, using closed system sample digestion: Collaborative study.* J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63(3) (1980) pp. 485-495
- [3] TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994), Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.
- [4] 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.