

TCVN 11046:2015

EN 14332:2004

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM - XÁC ĐỊNH CÁC NGUYÊN TỐ VẾT -
XÁC ĐỊNH ASEN TRONG THỦY SẢN BẰNG ĐO PHỔ HẤP
THỤ NGUYÊN TỬ DÙNG LÒ GRAPHIT (GFAAS) SAU KHI
PHÂN HỦY BẰNG LÒ VI SÓNG**

*Foodstuffs - Determination of trace elements - Determination of arsenic in seafood by graphite
furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) after microwave digestion*

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 11046:2015 hoàn toàn tương đương với EN 14332:2004;

TCVN 11046:2015 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F11
Thủy sản và sản phẩm thủy sản biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo
lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm - Xác định các nguyên tố vết - Xác định asen trong thủy sản bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit (GFAAS) sau khi phân hủy bằng lò vi sóng

Foodstuffs – Determination of trace elements – Determination of arsenic in seafood by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) after microwave digestion

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định asen trong thủy sản bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit (GFAAS) sau khi phân hủy bằng lò vi sóng [1], [2].

CHÚ THÍCH Nghiên cứu cộng tác đã thực hiện trên các mẫu thực phẩm có hàm lượng asen ≥ 2 mg/kg chất khô.

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).

TCVN 9525 (EN 13805), *Thực phẩm – Phân hủy mẫu bằng áp lực để xác định các nguyên tố vết*

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

3 Nguyên tắc

Mẫu được phân hủy trong hỗn hợp của axit nitric và hydro peroxit đựng trong các bình đáy kín trong lò vi sóng. Dung dịch tạo thành được pha loãng với nước và asen được xác định bằng GFAAS, sử dụng chất bổ chính nền.

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

4 Thuốc thử

4.1 Yêu cầu chung

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

4.2 Axit nitric (HNO_3), $w \geq 6,5\%$ (khối lượng), có tỷ trọng $\rho(\text{HNO}_3) \approx 1,4$ g/ml. Trong trường hợp không đủ độ tinh khiết thì cần tinh sạch axit trong thiết bị chưng cất như quy định trong TCVN 9525 (EN 13805).

4.2.1 Dung dịch axit nitric loãng 1, $w = 6,5\%$ (khối lượng) được chuẩn bị bằng cách trộn axit nitric (4.2) và nước với tỷ lệ tối thiểu 1 + 9 tính theo thể tích.

4.2.2 Dung dịch axit nitric loãng 2, $w = 0,65\%$ (khối lượng), được chuẩn bị bằng cách trộn axit nitric (4.2) và nước với tỷ lệ tối thiểu 1 + 99 tính theo thể tích.

4.3 Hydro peroxit, $w(\text{H}_2\text{O}_2) = 30\%$ (khối lượng)

4.4 Dung dịch gốc asen, có nồng độ khối lượng $\rho(\text{As}) = 1\,000$ mg/l.

Nên sử dụng dung dịch gốc đã được chứng nhận.

4.5 Dung dịch hiệu chuẩn asen

Pha loãng dung dịch gốc asen (4.4) với axit nitric loãng (4.2.2) để có được số lượng các dung dịch yêu cầu, bao trùm dải tuyến tính của đường chuẩn asen.

4.6 Chất bổ chính nền

4.6.1 Yêu cầu chung

Thay vì sử dụng dung dịch trong 4.6.2 và 4.6.4, có thể sử dụng các dung dịch paladi nitrat và magie nitrat có bán sẵn.

4.6.2 Dung dịch gốc paladi $\rho(\text{Mg}) = 10$ mg/ml

Hòa tan 2,16 g paladi nitrat, $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, trong khoảng 10 ml axit nitric 6,5 % (4.2.1) đựng trong bình định mức 100 ml và thêm nước đến vạch.

4.6.3 Dung dịch paladi $\rho(\text{Mg}) = 1,5 \text{ mg/ml}$

Pha loãng 1,5 ml dung dịch gốc paladi (4.6.2) đựng trong bình định mức với axit nitric 0,65 % (4.2.2) đến 10 ml.

4.6.4 Dung dịch gốc magie $\rho(\text{Pd}) = 10 \text{ mg/ml}$

Hòa tan 10,54 magie nitrat, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, trong khoảng 10 ml axit nitric 6,5 % (4.2.1) đựng trong bình định mức 100 ml và thêm nước đến vạch.

4.6.5 Dung dịch magie $\rho(\text{Mg}) = 1 \text{ mg/ml}$

Pha loãng 1 ml dung dịch gốc magie (4.6.4) trong bình định mức với axit nitric 0,65 % (4.2.2.) đến 10 ml.

4.6.6 Dung dịch paladi nitrat/magie nitrat được chuẩn bị bằng các thể tích thích hợp của dung dịch paladi (4.6.3) và dung dịch magie (4.6.5) (1+1). 10 μl dung dịch này chứa 7,5 μg Pd và 5,0 μg Mg.

5 Thiết bị, dụng cụ**5.1 Yêu cầu chung**

Tất cả các dụng cụ thủy tinh và chất dẻo phải được làm sạch và tráng rửa cẩn thận theo quy trình trong EN 13804.

5.2 Lò vi sóng, dùng cho phòng thử nghiệm, phù hợp với quy trình trong EN 13804.

5.3 Máy đo phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), có hiệu chỉnh nền, có lò graphit kèm theo ống graphit được phủ lớp chịu nhiệt, platform phủ lớp chịu nhiệt và bộ bơm mẫu tự động.

5.4 Đèn đặc hiệu, dùng cho nguyên tố asen.

5.5 Khí argon, độ tinh khiết không nhỏ hơn 99,998 %.

6 Cách tiến hành**6.1 Xử lý sơ bộ**

Đồng hóa mẫu theo các khuyến cáo nêu trong EN 13804. Làm khô mẫu sao cho không làm ảnh hưởng đến hàm lượng asen, ví dụ sấy đông khô, nếu cần.

6.2 Chuẩn bị mẫu

Dùng dung dịch thử nghiệm thu được bằng phương pháp phân hủy dùng lò vi sóng thích hợp, ví dụ TCVN 9525 (EN 13805) để xác định asen.

6.3 Xác định

6.3.1 Cài đặt máy đo phổ

Trước mỗi phép xác định, chỉnh thiết bị theo quy định trong hướng dẫn vận hành của nhà sản xuất. Sau đó xác định quy trình thử nghiệm tối ưu (sử dụng nền mẫu, nếu có thể), có tính đến các thông số như nhiệt độ và thời gian đối với các bước khác nhau trong chương trình nhiệt độ. Ví dụ các thông số thiết bị đối với asen có thể bước sóng là 193,7 nm và khe đo là 0,7 nm.

6.3.2 Xác định GFAAS

6.3.2.1 Yêu cầu chung

Bảng 1 đưa ra các ví dụ về các thông số thiết bị của lò graphit.

Bảng 1 – Chương trình thời gian/ nhiệt độ của lò graphit

Bước (#)	Nhiệt độ, °C	Thời gian tăng nhiệt, s	Thời gian giữ nhiệt, s	Tốc độ dòng khí, ml/min	Loại khí	Độc
1	110	1	20	250	Ar	
2	130	9	30	250	Ar	
3	1 350	12	20	250	Ar	
4	2 150	tăng nhanh	4	dừng		hoạt động
5	2 450	1	3	250	Ar	

Xác định độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử bằng GFAAS. Nếu không có sự sai khác nhiều về độ dốc của đường chuẩn trong trường hợp sử dụng phương pháp thêm chuẩn và phương pháp ngoại chuẩn, thì có thể áp dụng phương pháp ngoại chuẩn. Đường chuẩn phải bao gồm ít nhất 3 điểm, kể cả điểm 0.

CHÚ THÍCH 1 Các dữ liệu trong ngày trong bước nguyên tử hóa có thể thu được bằng cách đo chiều cao pic hoặc diện tích pic. Khi sử dụng kỹ thuật platform, thì nên đo diện tích pic.

CHÚ THÍCH 2 Thể tích bơm quá lớn có thể tạo bọt trong khi làm khô dẫn đến độ chụm thu được kém.

6.3.2.2 Phương pháp thêm chuẩn

Xác định dải tuyến tính của đường 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 trong đó ít nhất hai điểm thêm chuẩn. Nồng độ của chất chuẩn cao nhất phải cao gấp 3 đến 5 lần nồng độ của dung dịch mẫu. Nồng độ của chất chuẩn thấp hơn phải bằng một nửa nồng độ dung dịch chuẩn cao nhất.

Dụng đồ thị độ hấp thụ thu được bằng cách dựa trên các nồng độ bổ sung và ngoại suy đường thẳng tạo thành cho đến khi cắt trục hoành của đồ thị.

Trong trường hợp dùng thiết bị AAS có hệ thống bơm mẫu tự động, trong đó việc bổ sung được thực hiện trực tiếp trong lò graphit, thì phép xác định có thể được thực hiện ngay mà không cần pha loãng trước và điều này giảm được nguy cơ nhiễm bẩn đáng kể.

6.4 Kiểm soát chất lượng phân tích

Để kiểm soát chất lượng phân tích, cần tiến hành phân tích song song các dung dịch mẫu trắng và các mẫu đối chứng đã biết trước nồng độ asen theo EN 13804. Các mẫu đối chứng và các dung dịch mẫu trắng phải thực hiện tất cả các bước của phương pháp, bắt đầu từ việc phân hủy.

7 Tính kết quả

Hàm lượng asen, w , tính theo phần khối lượng của asen, tính bằng miligam trên kilôgam mẫu, sử dụng công thức sau đây:

$$w = \frac{a \times V \times F}{m} \quad (1)$$

Trong đó

a là hàm lượng asen có trong dung dịch thử, tính bằng miligam trên lit (mg/l);

V là thể tích dung dịch phân hủy, tính bằng mililit (ml);

F là hệ số pha loãng của dung dịch thử;

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

Lấy hàm lượng asen của dung dịch thử (a), trừ đi hàm lượng asen của dung dịch mẫu trắng, nếu cần.

8 Giới hạn định lượng

Giới hạn định lượng theo EN 13804 của dung dịch đo phụ thuộc vào các thông số sau đây:

TCVN 11046:2015

- kiểu ống graphit,
- chương trình nhiệt độ được sử dụng,
- lượng và kiểu nền mẫu có mặt trong dung dịch phân hủy.

Đối với asen, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng được ước tính theo EN 13804, có tính đến độ lệch chuẩn (SD) tính được trong đánh giá dài hạn.

9 Độ chụm

9.1 Yêu cầu chung

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

9.2 Độ lặp lại và độ tái lập

Độ lặp lại là chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm thử độc lập (hai mẫu mù), riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp thử, tiến hành trên cùng một vật liệu thử, thực hiện trong cùng một phòng thử nghiệm, do một người phân tích, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị r nêu trong Bảng 2. Độ tái lập là chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ thu được khi áp dụng cùng một phương pháp, tiến hành trên cùng mẫu thử, thực hiện trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị R nêu trong Bảng 2.

Bảng 2 – Giá trị trung bình, giới hạn lặp lại và tái lập đối với asen trong hải sản

Mẫu	$\bar{x}$ mg/kg	r mg/kg	R mg/kg
Trứng cá tuyết	2,32	0,94	1,3
Tép biển (Bắc cực)	3,39	0,80	2,2
Trai xanh	8,16	4,0	4,0
Cá minh thái	23,6	2,6	2,9
Tôm hùm	19,0	3,6	4,9
Thịt cá tuyết	23,6	4,3	7,1
Tôm	41,2	8,7	15,7
Dịch chiết từ thịt cá tuyết	79,3	23,6	29,6

10 Báo cáo thử nghiệm

- a) mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) kết quả thử nghiệm thu được và các đơn vị đo theo quy định;
- d) ngày lấy mẫu và quy trình lấy mẫu (nếu biết);
- e) ngày kết thúc phân tích;
- f) yêu cầu về giới hạn lặp lại;
- g) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được coi là tùy chọn, cùng với các tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Độ chụm của phương pháp được Ủy ban phân tích thực phẩm Bắc Âu (NKML) đánh giá trong phép thử liên phòng thử nghiệm theo tài liệu tham khảo [3]. Các kết quả được nêu trong Bảng A.1. Kết quả của mẫu chuẩn đã được chứng nhận được nêu trong Bảng A.2.

Trong nghiên cứu thực hiện phương pháp liên phòng thử nghiệm (cộng tác) tám phòng thử nghiệm đã tham gia để xác định arsen trong thủy sản bằng phổ hấp thụ nguyên tử sau khi phân hủy ướt dùng lò graphit (GFAAS), sử dụng kỹ thuật dùng lò vi sóng được tiến hành năm 1996 [2]. Các mẫu được sử dụng để tham gia nghiên cứu là hai mẫu mù và tiến hành các phép xác định đơn lẻ trên mỗi mẫu.

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

Thông số	Mẫu							
	Trứng cá tuyết	Tép biển (Bắc cực)	Trai xanh	Cá minh thái	Tôm hùm	Thịt cá tuyết	Tôm	Dịch chiết từ thịt cá tuyết
Số lượng các phòng thử nghiệm tham gia	8	8	8	8	8	8	8	8
Số lượng các phòng thử nghiệm sau khi trừ ngoại lệ (các kết quả thử nghiệm được chấp nhận)	8	8	8	8	8	8	8	7
Giá trị trung bình $\bar{x}$ (mg/kg)	2,3	3,4	8,2	13,6	19,0	23,6	41,2	79,3
Độ lệch chuẩn lặp lại s_r (mg/kg)	0,3	0,3	1,4	0,9	1,3	1,5	3,1	8,4
RSD – r (%)	14,4	8,5	17,4	6,9	6,8	6,5	7,6	10,5
Giới hạn lặp lại r (mg/kg)	0,9	0,8	4,0	2,6	3,6	4,3	8,7	23,6
Giá trị Horwitz r	9,1	8,7	7,7	7,2	6,8	6,7	6,0	5,5
Chỉ số Horrat r	1,58	0,98	2,26	0,96	1,0	0,64	1,45	1,93
Độ lệch chuẩn tái lập s_R (mg/kg)	0,5	0,8	1,1	1,0	1,7	2,5	5,6	10,5
RSD – R (%)	20	23	17,4	7,6	9,2	10,7	13,6	13,2
Giới hạn tái lập R (mg/kg)	1,3	2,2	4,0	2,9	4,9	7,1	15,7	29,6
Giá trị Horwitz R	13,8	13,2	11,7	10,9	10,3	10,1	9,2	8,3
Chỉ số Horrat R	1,45	1,74	1,49	0,70	0,89	1,07	1,49	1,59

**Bảng A.2 – Các kết quả của mẫu chuẩn đã được chứng nhận
trong phép thử liên phòng thử nghiệm**

Mẫu	Giá trị trung bình (n=8) (mg/kg)	s_R (mg/kg)	Giá trị đã được chứng nhận (mg/kg)	Khoảng tin cậy (95 %)
Thịt hàu; NIST SRM 1566 a	13,8	0,8	14,0	1,2

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Julshamn, K., Maage, A. and Larsen, E.H. (1996). *Fresenius J. Anal. Chem.* 355, 304 - 307.
 - [2] Nordic Committee on Food Analysis (2000) *Arsenic. Determination in Seafood by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry (ET AAS) after Microwave digestion.* No 166.
 - [3] *Guidelines for Collaborative Study Procedures to Validate Characteristics of a Method of Analysis* (1995) *J. AOAC Int.* 78, 143 A – 160 A.
-