

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7993:2009

EN 13806:2002

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH CÁC NGUYÊN TỐ VẾT –
XÁC ĐỊNH THUYẾT NGÂN BẰNG ĐO PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN
TỬ HƠI-LẠNH (CVAAS) SAU KHI PHÂN HUỶ BẰNG ÁP LỰC**

*Foodstuffs – Determination of trace elements –
Determination of mercury by cold-vapour atomic absorption
spectrometry (CVAAS) after pressure digestion*

HÀ NỘI – 2009

Lời nói đầu

TCVN 7993:2009 thay thế TCVN 5152:1990;

TCVN 7993:2009 hoàn toàn tương đương với EN 13806:2002;

TCVN 7993:2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F8
Thịt và sản phẩm thịt biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất
lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm – Xác định các nguyên tố vết – Xác định thủy ngân bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử hơi-lạnh (CVAAS) sau khi phân huỷ bằng áp lực

*Foodstuffs – Determination of trace elements –
Determination of mercury by cold-vapour atomic absorption
spectrometry (CVAAS) after pressure digestion*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định thủy ngân trong các sản phẩm thực phẩm bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử hơi lạnh (CVAAS) sau khi phân huỷ bằng áp lực.

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.

EN 13805, Foodstuffs – Determination of trace elements – Pressure digestion.

3 Nguyên tắc

Xác định thủy ngân trong dung dịch thử bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử hơi lạnh (CVAAS) sau khi phân huỷ bằng áp lực theo EN 13805.

Dung dịch thử được chuyển vào bình phản ứng của máy phân tích thủy ngân và thủy ngân được khử bằng thiếc hoá trị hai hoặc natri borohydrua và cho chảy vào cuvet của bộ phận đo AAS bằng cách sử

TCVN 7993:2009

dụng dòng khí mang. Độ hấp thụ ở bước sóng 253,7 nm (đường thuỷ ngân) được dùng làm phép đo nồng độ thuỷ ngân trong cuvet. Nếu hàm lượng thuỷ ngân trong dung dịch mẫu thử rất nhỏ, thì tốt nhất nên làm giàu thuỷ ngân trên lưới platin/vàng (kỹ thuật hõn hống) trước khi xác định trong cuvet.

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 qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

4 Thuốc thử

4.1 Yêu cầu chung

Nồng độ của các nguyên tố vết 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, không nhỏ hơn 30 % (khối lượng), ρ (HCl) = 1,15 g/ml.

4.3 Axit nitric, không nhỏ hơn 65 % (khối lượng), ρ (HNO₃) = 1,4 g/ml.

4.4 Axit nitric loãng

Trộn axit nitric (4.3) với nước theo tỷ lệ tối thiểu là 1 + 9 phần thể tích.

4.5 Tác nhân khử

4.5.1 Yêu cầu chung

Có thể sử dụng thiếc (II) clorua hoặc natri borohydrua làm tác nhân khử, nhưng không khuyến cáo sử dụng hai thuốc thử thay thế khác. Tiến hành theo chỉ dẫn của nhà sản xuất thiết bị.

4.5.2 Dung dịch thiếc (II) clorua, nồng độ 100 g/l.

Hoà tan 50 g thiếc (II) clorua, SnCl₂.2H₂O trong khoảng 100 ml axit clohydric (4.2) trong bình định mức 500 ml và pha loãng bằng nước đến vạch. Chuẩn bị dung dịch mới mỗi lần sử dụng.

4.5.3 Dung dịch natri borohydrua, nồng độ 30 g/l

Hoà tan 3 g natri borohydrua cùng với 1 g natri hydroxit trong nước và pha loãng đến 100 ml. Chuẩn bị dung dịch mới mỗi lần sử dụng và lọc trước khi sử dụng, nếu cần.

Nồng độ khối lượng của các dung dịch khử có thể được thay đổi cho phù hợp với hệ thống và cần tuân thủ các chỉ dẫn của nhà sản xuất thiết bị.

CẢNH BÁO Cần tuân thủ các chỉ dẫn về an toàn khi làm việc với natri borohydrua. Natri borohydrua tạo ra hydro kết hợp với axit, do đó có thể tạo ra hỗn hợp khí/hydro gây nổ. Cần có hệ thống tách chiết thường xuyên khi thực hiện các phép đo.

4.6 Dung dịch kali permanganat, nồng độ 40 g/l

Hoà tan 0,4 g dung dịch kali permanganat trong nước và pha loãng đến 10 ml. Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

4.7 Dung dịch kali dicromat, nồng độ 5 g/l

Hoà tan 5 g kali dicromat trong 500 ml axit nitric (4.3) và pha loãng bằng nước đến 1 l.

4.8 Dung dịch gốc thuỷ ngân, nồng độ 1000 mg/l

Hoà tan 1,080 g thuỷ ngân (II) oxit trong 10 ml dung dịch kali dicromat (4.7) và pha loãng bằng nước đến 1 l. Dung dịch gốc này có bán sẵn trên thị trường. Nên sử dụng các dung dịch gốc đã được chứng nhận.

4.9 Dung dịch hiệu chuẩn thuỷ ngân

Pha loãng các dung dịch gốc đến các nồng độ cần cho hiệu chuẩn bằng 10 ml dung dịch kali dicromat (4.7) trên lít đối với mỗi dung dịch. Chọn các nồng độ sao cho không vượt quá dải tuyến tính hiệu chuẩn. Nên sử dụng tối thiểu 3 dung dịch hiệu chuẩn có các nồng độ khác nhau.

Nồng độ axit trong các dung dịch hiệu chuẩn phải bằng nồng độ của dung dịch thử. Các dung dịch thuỷ ngân không bền trong thời gian dài, ngay cả khi có nồng độ rất cao, do đó cần chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

4.10 Dung dịch bù đến vạch số không

Dung dịch bù đến vạch số không gồm có nước, kali dicromat 10 ml/l (4.7) và một lượng axit nitric (4.3) có nồng độ giống với nồng độ axit của dung dịch thử.

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 theo quy định trong EN 13804.

TCVN 7993:2009

5.2 Máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử, có điều chỉnh nền tùy chọn, có các phụ kiện được sử dụng cho kỹ thuật hơi lạnh và kỹ thuật hỗn hống và có hệ thống đo và ghi. Có thể sử dụng hệ thống bơm dòng thay cho kỹ thuật thủ công.

5.3 Đèn đặc thù, dùng cho thủy ngân.

6 Cách tiến hành

6.1 Đo phổ hấp thụ nguyên tử hơi lạnh (CVAAS)

6.1.1 Cài đặt máy đo phổ

Để đặt chương trình thử, trước hết chỉnh thiết bị theo quy định trong sổ tay hướng dẫn của nhà sản xuất, sau đó tối ưu hoá việc cài đặt, chú ý đặc biệt về thời gian dòng khí và lượng thiếc (II) clorua hoặc natri borohydrua đưa vào.

6.1.2 Ví dụ về xác định bằng CVAAS

Chỉnh dụng cụ đo về vị trí số không bằng dung dịch bù đến vạch số không 4.10, khi cần.

Sử dụng các dung dịch hiệu chuẩn thích hợp để thu được hàm số hiệu chuẩn. Nếu có thể, hiệu chuẩn số đo trực tiếp theo nồng độ bằng các dung dịch hiệu chuẩn. Định kỳ kiểm tra dải tuyến tính của hàm số hiệu chuẩn.

Sau khi thiết lập xong hàm số hiệu chuẩn, có thể sử dụng dung dịch thử để xác định, không cần phải xử lý tiếp hoặc nếu nồng độ nằm ngoài dải tuyến tính thì cần pha loãng dung dịch thử trước. Khi cần kéo dài một dãy các phép đo, thì nên kiểm tra vị trí số không và việc hiệu chuẩn tại các khoảng nhất định.

Để tránh việc hấp thụ thủy ngân trên thành bình đo và để tăng độ ổn định của các dung dịch mẫu thử và dung dịch hiệu chuẩn khi vận hành, thì có thể nên bổ sung vài giọt dung dịch kali permanganat (4.6) vào dung dịch mẫu trong bình đo cho đến khi thu được màu đỏ bền. Để yên dung dịch trong mười phút trước khi cho vào bình phản ứng để xác định.

Tuy rằng kỹ thuật hơi lạnh ít khi cần đến hiệu chỉnh và dù hiệu chỉnh nên có cần hay không thì vẫn phải kiểm tra đối với từng loại mẫu. Để kiểm soát chất lượng phân tích, cần phân tích các mẫu chuẩn có hàm lượng thủy ngân biết trước đồng thời với tất cả các dãy mẫu cần phân tích, các mẫu chuẩn cũng cần phải trải qua tất cả các bước của phương pháp kể từ giai đoạn phân hủy. Các dung dịch thử trắng được chuẩn bị cũng phải qua các bước của phương pháp xác định.

7 Tính kết quả

Tính hàm lượng thủy ngân, w , có trong mẫu thử, tính bằng miligam trên kilogam mẫu, theo công thức sau đây:

$$w = \frac{a \times V}{V_1 \times m \times 1000}$$

trong đó

a là khối lượng tuyệt đối của thủy ngân, có trong dung dịch đã sử dụng, tính bằng nanogam;

V là thể tích dung dịch phân huỷ, tính bằng mililit;

V_1 là thể tích dung dịch thử, tính bằng mililit;

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

Nếu cần, lấy hàm lượng thủy ngân, a , trừ đi kết quả của dung dịch trắng.

8 Giới hạn định lượng

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

- nguyên tắc giải phóng thủy ngân (theo mẻ hay hệ thống dòng chảy);
- làm giàu (hỗn hống) hay không làm giàu;
- trong trường hợp hệ thống dòng chảy:
 - giải phóng liên tục/không liên tục Hg;
 - lượng dung dịch phân huỷ đã sử dụng;
 - kết cấu của thiết bị;
 - sự gây nhiễu của chất nền.

Giới hạn định lượng thường trong dải từ 0,05 µg/l đến 5 µg/l, liên quan đến dung dịch đo.

Với phần mẫu thử 0,5 g và thể tích phân huỷ cuối cùng 20 ml thì giới hạn định lượng của thực phẩm sẽ được tính trong khoảng từ 0,002 mg/kg đến 0,2 mg/kg.

9 Độ chụm

9.1 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.

9.2 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, không quá 5 % các trường hợp vượt quá các giá trị nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Độ lặp lại

Mẫu	\bar{x} mg/kg	r mg/kg
Gan bò đông khô	0,042	0,007
Cá ngám nước muối, đã đông nhất	0,36	0,04
Tôm hùm, đã đông nhất	0,020	0,005
Cá hồi đông khô	0,12	0,04
Bột táo đông khô	0,015	0,003
Bột mì	0,017	0,003

9.3 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, không quá 5 % các trường hợp vượt quá các giá trị nêu trong Bảng 2.

Bảng 2 – Độ tái lập

Mẫu	\bar{x} mg/kg	R mg/kg
Gan bò đông khô	0,042	0,020
Cá ngám nước muối, đã đông nhất	0,36	0,13
Tôm hùm, đã đông nhất	0,020	0,011
Cá hồi đông khô	0,12	0,08
Bột táo đông khô	0,015	0,022
Bột mì	0,017	0,023

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp thử đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) kết quả thu được và đơn vị đo;
- d) ngày lấy mẫu và quy trình lấy mẫu, nếu biết;
- e) ngày kết thúc phân tích;
- f) yêu cầu về độ lặp lại và độ tái lập đã đạt được hay chưa;
- g) mọi chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường nào 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 đã được thiết lập bởi Nhóm Công tác "Balaced diets – Trace element analysis" của Ủy ban Sức khỏe Liên bang Đức về việc áp dụng điều khoản 35 của Đạo luật Thực phẩm Liên bang Đức và Nhóm công tác "Thành phần vô cơ" của nhóm nghiên cứu thuộc Hội hoá học Thực phẩm của Đức và đã kiểm tra xác nhận trong phép thử liên phòng thử nghiệm được đánh giá theo ISO 5725 [3]. Kết quả được nêu trong Bảng A.1.

Bảng A.1 – Các dữ liệu về độ chụm

Thông số	Mẫu					
	Gan bò, được làm khô lạnh	Cá ngám nước muối, đã đông nhất	Tôm hùm, đã đông nhất	Cá hồi, đã được làm khô lạnh	Bột táo, đã được làm khô lạnh	Bột mì
Năm thử nghiệm	1993	1993	1993	1993	1993	1994
Số lượng phòng thử nghiệm	10	12	11	12	8	8
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ ^a	9	12	10	12	8	8
Số ngoại lệ	1	0	1	0	0	0
Số lượng kết quả được chấp nhận	45	60	20	24	16	16
Giá trị trung bình \bar{x} (mg/kg)	0,042	0,36	0,020	0,12	0,015	0,017
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r (mg/kg)	0,002	0,01	0,002	0,02	0,001	0,001
$RSD - r$ (%)	5,7	4,1	8,8	12,9	7,2	6,7
Giới hạn lặp lại r (mg/kg)	0,007	0,04	0,005	0,04	0,003	0,003
Trị số Horwitz r	17	13	19	15	20	19
Chỉ số Horrat, r	0,34	0,32	0,46	0,89	0,37	0,35
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R (mg/kg)	0,007	0,04	0,004	0,03	0,008	0,008
$RSD - R$ (%)	16,6	12,3	19,7	23,0	51,0	47
Giới hạn tái lập R (mg/kg)	0,020	0,13	0,011	0,08	0,022	0,023
Trị số Horwitz R	26	19	29	22	30	29
Chỉ số Horrat R	0,64	0,65	0,68	1,05	1,69	1,58

Các giá trị đã được chứng nhận của một số mẫu đã phân tích trong các phép thử liên phòng thử nghiệm nêu trong Bảng A.2 [4].

Bảng A.2 – Các giá trị đã được chứng nhận

Mẫu	Giá trị đã được chứng nhận mg/kg	Khoảng tin cậy (95 %)	Giá trị trung bình mg/kg
Gan bò đông khô	0,044	0,003	0,042
Tôm hùm, đông nhất	0,017	0,002	0,020
Cá hồi đông khô	0,116	0,018	0,121

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Hatch, W. R.; Ott, W. L. Analytical Chemistry, 1968:40, No. 14, S 2085-2087.
- [2] Welz, B., Sperling, M.: Atomabsorptionsspektrometrie, Weinheim, Wiley-VCH-Verlag 1997.
- [3] ISO 5725:1986 Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for standard tests methods by inter-laboratory tests (hiện nay đã hủy).
- [4] NMKL procedure No. 9, 2001, Evaluation of results derived from the analysis of certified reference materials. NMKL c/o National Veterinary Institute, Box 8156 Dep., 0033 Oslo, Norway.
-