

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 13646:2023

Xuất bản lần 1

**MỸ PHẨM – PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ARSEN (As), CADIMI (Cd), CHÌ
(Pb) VÀ THỦY NGÂN (Hg) BẰNG PHƯƠNG PHÁP
QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ (AAS)**

*Cosmetics – Analytical methods – Determination of Arsenic (As), Cadmium (Cd), Lead
(Pb) and Mercury (Hg) by Atomic Absorption Spectroscopy*

HÀ NỘI – 2023

Lời nói đầu

TCVN 13646:2023 được xây dựng trên cơ sở tham khảo ACM 005 - *Determination of heavy metals (Arsenic, Cadmium, Lead and Mercury) in cosmetic products*

TCVN 13646:2023 do Viện Kiểm nghiệm Thuốc thành phố Hồ Chí Minh biên soạn, Bộ Y tế đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lời giới thiệu

Kim loại nặng trong mỹ phẩm gây độc hại với môi trường và sức khỏe con người khi hàm lượng của chúng vượt quá tiêu chuẩn cho phép do đó được kiểm tra nghiêm ngặt từ nguồn nguyên liệu đến thành phẩm.

Những kim loại nặng như chì, asen, thủy ngân, cadmin không được xem như thành phần của mỹ phẩm, chúng chỉ được coi như là tạp chất có thể bị nhiễm từ nguyên liệu đầu vào hoặc từ môi trường sản xuất; giới hạn cho phép theo Asean được quy định trong Phụ lục VIII.

Một số phương pháp xác định hàm lượng các kim loại nặng trong thuốc, thực phẩm như phương pháp so màu, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử, ICP-OES, ICP-MS theo được dẫn trong và ngoài nước hay TCVN.

Phương pháp phân tích này sử dụng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử xác định giới hạn As, Cd, Pb và Hg trong sản phẩm mỹ phẩm.

Mỹ phẩm – Phương pháp phân tích - Xác định hàm lượng arsen (As), cadimi (Cd), chì (Pb) và thủy ngân (Hg) bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS)

Cosmetics – Analytical methods – Determination of arsenic (As), cadmium (Cd), lead (Pb) and mercury (Hg) by atomic absorption spectroscopy

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử để xác định hàm lượng các kim loại nặng As, Cd, Pb và Hg trong sản phẩm mỹ phẩm.

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 4851:1989 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm - Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

3 Nguyên tắc

Sau khi phá hủy các hợp chất hữu cơ bằng phương pháp vi sóng cao áp hoặc phương pháp khô, các kim loại nặng được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit (GF-AAS), hóa hơi lạnh (MV-AAS) hoặc hóa hơi hydride (HG-AAS).

4 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, dùng cho dùng cho quang phổ hấp thụ nguyên tử.

CẢNH BÁO: Công việc phân tích phải được tiến hành trong môi trường phòng thử nghiệm phù hợp, được trang bị bảo hộ cá nhân (ví dụ: kính bảo hộ, quần áo bảo hộ lao động, găng tay).

4.1 Acid nitric đậm đặc

4.2 Acid hydrochloric 37 % (kl/kl)

4.3 Hydrogen peroxid 30 % (tt/tt)

4.4 Nước (điện trở suất $\geq 18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$)

4.5 Dung dịch acid nitric (HNO_3) 0,5 % (tt/tt)

4.6 Dung dịch acid sulfuric (H_2SO_4) 1 N

4.7 Dung dịch thiếc (II) clorid (SnCl_2) 10 %: Hòa tan 20 g thiếc (II) clorid dihydrat trong 40 mL acid hydrochloric bằng cách đun nóng, để nguội, thêm nước để được 200 mL dung dịch

4.8 Dung dịch natri borohydrid (NaBH_4) 0,5 %: Hòa tan 2,5 g natri hydroxyd và 2 g natri borohydrid trong nước để được 500 mL dung dịch

4.9 Dung dịch hấp phụ Hg: Dung dịch KMnO_4 0,5 % trong acid sulfuric 5 %

4.10 Dung dịch acid hydrochloric (HCl) 5 N

4.11 Dung dịch kali iod (KI) 20 % (kl/tt)

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Thiết bị phá hủy mẫu bằng vi sóng

Bảng 1- Ví dụ điều kiện phân hủy đối với lò vi sóng Ethos UP; dạng mẫu: kem, bột (phấn), son

Pha	Thời gian giữ (min)	Công suất (W)	Nhiệt độ ($^{\circ}\text{C}$)	Tốc độ gió
1	25	1800	210	3
2	15	1800	210	3
Làm lạnh	30	0	0	3

Đối với các thiết bị phá hủy mẫu bằng vi sóng khác, nên tham khảo hướng dẫn của nhà sản xuất.

5.2 Cốc thạch anh hoặc tetrafluoromethan (TFM), dung tích 50 – 100 mL

5.3 Quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò graphite (Cd và Pb)

5.3.1 Điều kiện

Bảng 2- Ví dụ điều kiện đối với thiết bị lò graphite (GF) - Shimadzu AA6300

Nguyên tố	Bước sóng (nm)	Nhiệt độ phân hủy ($^{\circ}\text{C}$)	Nhiệt độ nguyên tử hóa ($^{\circ}\text{C}$)	Dung dịch điều chỉnh (μL)	Thể tích tiêm các dung dịch (μL)
Cd	228,8	500	2200	5	20
Pb	283,3	800	2400	5	20

Bảng 3- Ví dụ điều kiện đối với Thiết bị lò graphite (GF) - AAS Thermo Scientific iEc 3500

Nguyên tố	Bước sóng (nm)	Nhiệt độ tro hóa (°C)	Nhiệt độ nguyên tử hóa (°C)	Thể tích dung dịch nền (μL)	Thể tích mẫu (μL)
Pb	283,3	800	1700	10	20
Cd	228,8	600	1500	10	20

Đối với các thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò graphite khác, nên tham khảo hướng dẫn của nhà sản xuất

5.4 Quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật hóa hơi hydrid

Điều kiện hóa hơi hydrid cho thiết bị HG-AAS:

Bảng 4- Ví dụ điều kiện HVG - Shimadzu AA6300 và VP100 - AAS Thermo Scientific iEc 3500

Nguyên tố	Bước sóng (nm)	Tác nhân khử	Chất mang	Ngọn lửa
As	193,7	NaBH ₄ 0,5 %	HCl 5 N (tt/tt)	Không khí - C ₂ H ₂

Đối với các thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng phương pháp hóa hơi hydrid khác, nên tham khảo hướng dẫn của nhà sản xuất

5.5 Quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng kỹ thuật hóa hơi lạnh

Bảng 5- Ví dụ điều kiện bộ MVU – Shimadzu AA6300

Nguyên tố	Bước sóng (nm)	Tác nhân khử	Môi trường
Hg	253,7	SnCl ₂ 10 %	H ₂ SO ₄ 1N

Bảng 6- Ví dụ điều kiện bộ VP100 - AAS Thermo Scientific iEc 3500

Nguyên tố	Bước sóng (nm)	Tác nhân khử	Chất mang
Hg	253,7	NaBH ₄ 0,5 %	HCl 5 N (tt/tt)

Đối với các thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng phương pháp hóa hơi lạnh khác, nên tham khảo hướng dẫn của nhà sản xuất.

5.6 Nguồn bức xạ: Đèn phóng điện không điện cực hoặc đèn cathode rỗng: As, Cd, Pb và Hg

5.7 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,1 mg

5.8 Bình định mức, loại A, với các dung tích khác nhau

5.9 Pipet thủy tinh, loại A, với các dung tích khác nhau

5.10 Ống đồng chia vạch, với các dung tích khác nhau

6 Cách tiến hành

6.1 Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Sử dụng các dung dịch chuẩn gốc As, Cd, Pb và Hg có nồng độ 1000 μg/mL để pha chế

TCVN 13646:2023

6.1.1 As: Chuẩn bị dung dịch có nồng độ 200 ng/mL trong acid nitric 0,5 % (4.5)

6.1.2 Cd: Chuẩn bị các dung dịch nồng độ từ 0,1 đến 0,7 ng/mL trong acid nitric 0,5 % (4.5)

6.1.3 Pb: Chuẩn bị các dung dịch có nồng độ từ 4 đến 40 ng/mL trong acid nitric 0,5 % (4.5)

6.1.4 Hg: Chuẩn bị các dung dịch có nồng độ 50, 100, 200 ng/mL trong acid nitric 0,5 % (4.5)

Đối với các thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử khác, nên tham khảo khoảng nồng độ theo hướng dẫn của nhà sản xuất

6.2 Dung dịch điều chỉnh cho GF- AAS

Đối với Pb, Cd: Trộn đồng thể tích dung dịch $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 0,2 % (kl/tt) trong acid nitric 0,5 % và dung dịch $NH_4H_2PO_4$ 0,2 % (kl/tt) trong acid nitric 0,5 %.

6.3 Chuẩn bị dung dịch thử

Trước khi tiến hành phân tích, mẫu được trộn đều hoặc đồng nhất kỹ bằng máy đồng nhất mẫu

Xử lý mẫu trắng song song với xử lý mẫu thử nhưng không có mẫu thử

Mẫu thử được xử lý như sau:

6.3.1 Phá hủy vi sóng (As, Cd, Pb và Hg)

6.3.1.1 Cân khoảng 200 mg mẫu thử, chính xác đến 0,1 mg vào cốc thạch anh hoặc cốc TFM (5.2). Tránh sự dính mẫu vào thành cốc. Thêm 8 mL acid nitric (4.1) và 2 mL hydrogen peroxide 30 % (4.3) bằng pipet thủy tinh (5.9). (Thể tích các acid có thể thay đổi phù hợp với thể tích bình TFM theo hướng dẫn của nhà sản xuất)

6.3.1.2 Đóng nắp cốc thạch anh hoặc cốc TFM. Để yên 15 min để đảm bảo phản ứng xảy ra hoàn toàn. Phá mẫu trong lò vi sóng với chương trình được chỉ định

6.3.1.3 Làm nguội về nhiệt độ phòng, thêm 20 mL nước khử khoáng đồng thời tráng thành và nắp của cốc thạch anh hay cốc TFM. Lọc qua giấy lọc vào bình định mức 50 mL (5.8) và pha loãng và định mức bằng nước khử khoáng (4.4)

Chú thích: Nếu mẫu không được phá hủy hoàn toàn, thực hiện lại quá trình phá mẫu với lò vi sóng.

6.3.2 Chuẩn bị mẫu thêm chuẩn để xác định tỷ lệ thu hồi

Phần trăm thu hồi của nguyên tố trong mẫu nên được thực hiện cho ít nhất một mẫu thử trong quá trình phân tích

6.3.2.1 Cân khoảng 200 mg mẫu thử, chính xác đến 0,1 mg, vào cốc thạch anh hoặc cốc TFM (5.2). Hút các dung dịch chuẩn vào các cốc như sau:

Bảng 7- Nồng độ dung dịch chuẩn thêm vào (tham khảo)

Nguyên tố	Nồng độ dung dịch chuẩn ($\mu\text{g/mL}$)	Thể tích lấy (μL)
As	10	100
Cd	10	100
Pb	40	100
Hg	1	200

Chú thích: Nồng độ các dung dịch chuẩn có thể thay đổi cho các thiết bị AAS của các nhà sản xuất khác.

6.3.2.2 Thực hiện tiếp như mục 6.1.1.1 đến 6.1.1.3.

6.3.3 Tiền xử lý As (cho phương pháp HG-AAS)

Từ dung dịch chuẩn arsen 200 ng/mL pha trong HNO_3 0,5 % (4.5), dung dịch thử và mẫu trắng tiến hành chuẩn bị các dung dịch theo như bảng sau:

Bảng 8- Dung dịch thử và dung dịch chuẩn

Mẫu	Thể tích dung dịch chuẩn/ thử/ trắng (mL)	Dung dịch HCl 37 % (mL)	Dung dịch KI 20 % (mL)	Thêm nước vừa đủ (mL)	Nồng độ dung dịch chuẩn arsen (ng/mL)
Chuẩn	1	10	10	100	2
	1	5	5	50	4
	5	10	10	100	10
	15	20	20	200	15
	20	20	20	200	20
	25	20	20	200	25
Thử	10	2	2	20	-
Trắng	10	2	2	20	-

Các dung dịch chuẩn bị trên sau khi trộn đều, để yên ít nhất 15 min.

Các dung dịch này được dùng cho phân tích HG-AAS

6.4 Trình tự phân tích mẫu

Tiêm hoặc hút lần lượt dung dịch mẫu trắng, chuẩn và thử vào thiết bị GF-AAS hoặc CV-AAS hoặc HG-AAS với điều kiện được chỉ định từ mục 4.3 đến 4.6 như sau:

- Dung dịch HNO_3 0,5 % (tt/tt) hoặc dung dịch HCl 3 % (tt/tt), lặp lại hai lần.
- Các dung dịch chuẩn để xây dựng đường hồi quy (3.13), (thông thường 5 mức, tối thiểu 3 mức)
- Dung dịch mẫu thử, lặp lại hai lần.
- Dung dịch mẫu thử thêm chuẩn, lặp lại hai lần.

TCVN 13646:2023

- Dung dịch chuẩn kiểm tra (tối thiểu 1 mức)

(vd. As 20 hoặc 6 µg/L, Cd 2 µg/L, Pb 20 µg/L và Hg 2 µg/L)

(Chú thích: Sự khác biệt tìm lại từ đường chuẩn không nên lớn hơn 10 %.)

Độ hấp thu hoặc chiều cao pic hoặc diện tích pic của các dung dịch chuẩn được vẽ dựa trên nồng độ các dung dịch chuẩn bởi thiết bị.

Nồng độ của As, Cd, Pb và Hg trong các dung dịch thử được tính toán và ghi lại.

7 Đánh giá kết quả

7.1 Tính toán kết quả

Tính toán nồng độ (µg/g) của As, Cd, Pb và Hg trong mẫu:

$$\text{Nồng độ (}\mu\text{g/g)} = \frac{\text{Nồng độ của Pb, Cd, Hg, As trong mẫu thử (}\mu\text{g/L)} \times \text{thể tích mẫu thử (mL)}}{\text{Khối lượng mẫu thử (g)} \times 1000}$$

$$\% \text{ thu hồi} = \frac{\text{Nồng độ Pb, Cd, Hg, As trong mẫu thử thêm chuẩn (}\mu\text{g/g)} - \text{Nồng độ của Pb, Cd, Hg, As trong mẫu thử (}\mu\text{g/g)} \times 100}{\text{Nồng độ Pb, Cd, Hg, As chuẩn được thêm vào (}\mu\text{g/g)}}$$

7.2 Báo cáo kết quả

Nếu kết quả nhỏ hơn LOD thì báo cáo “không phát hiện As, Cd, Pb và Hg”

Nếu kết quả lớn hơn LOD nhưng nhỏ hơn LOQ thì báo cáo “Nồng độ của As, Cd, Pb và Hg dưới LOQ.

Nếu kết quả lớn hơn LOQ, nồng độ của As, Cd, Pb và Hg trong mẫu được báo cáo. Yêu cầu các kết quả được thể hiện với 2 số lẻ thập phân.

7.3 Khi nồng độ cao, mẫu cần được pha loãng đến nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính của đường hồi quy.

8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm:

- Tất cả thông tin cần thiết để nhận biết mẫu;
- Tất cả thông tin cần thiết để nhận biết phòng thí nghiệm thực hiện thử nghiệm;
- Viện dẫn tiêu chuẩn này;
- Ngày và quy trình lấy mẫu (nếu biết);
- Ngày nhận mẫu phòng thí nghiệm;

- f) Ngày kết thúc thử nghiệm;
- g) Kết quả thu được và đơn vị biểu thị kết quả;
- h) Bất kỳ thao tác nào không được qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.
- i) Nhận dạng và chữ ký của người chịu trách nhiệm đối với báo cáo thử nghiệm.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Thông tin thẩm định phương pháp

A.1 Độ chụm

Bảng A.1- Độ lặp

Nguyên tố	Kem	
	Hàm lượng (µg/g)	RSD (%)
As	1,7	2
Cd	1	3,8
Pb	40	2,9
Hg	0,1	4,4

Bảng A.2- Độ chụm trung gian

Nguyên tố	Kem	
	Hàm lượng (µg/g)	p-value (n=5, α = 0,05)
As	1,7	2
Cd	1	3,8
Pb	40	2,9
Hg	0,1	4,4

A.2 Độ thu hồi

Bảng A.3- Độ thu hồi

Nguyên tố	Độ thu hồi (%)		
As	97	÷	115
Cd	86	÷	105
Pb	88	÷	110
Hg	88	÷	111

A.3 Khoảng tuyến tính

Bảng A.4- Khoảng tuyến tính

Nguyên tố	Khoảng nồng độ	Hệ số tương quan r
As	5,0 + 50 (µg /L)	0,99921
Cd	0,5 + 5 (µg /L)	0,99997
Pb	5,0 + 50 (µg /L)	0,99925
Hg	0,5 + 5,0 (µg /L)	0,99815

A.4 Giới hạn định lượng (LOQ)

Bảng A.5- Giới hạn định lượng

Nguyên tố	Giới hạn định lượng LOQ (µg/g)	Giới hạn định lượng LOD (µg/g)
As	2,5	0,5
Cd	0,5	0,1
Pb	5,0	1,0
Hg	0,5	0,1