

Lời nói đầu

TCVN 7768-2:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 6561-2:2005;

TCVN 7768-2:2007 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.

TCVN 7768:2007 (ISO 6561:2005) Rau, quả và sản phẩm rau, quả – Xác định hàm lượng cadimi, bao gồm các phần sau đây:

- Phần 1: Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit;
- Phần 2: Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa.

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

Phần 2: Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa

Fruits, vegetables and derived products – Determination of cadmium content

Part 2: Method using flame atomic absorption spectrometry

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng cadimi trong rau, quả và sản phẩm rau, quả bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa.

CHÚ THÍCH Phương pháp này dùng để xác định cadimi trong rau, quả và sản phẩm rau, quả dựa trên phương pháp phân tích chính thức của AOAC^[1].

2 Nguyên tắc

Phương pháp này dựa trên việc phá huỷ các chất hữu cơ được bằng HNO₃, H₂SO₄ và H₂O₂, chiết cadimi bằng dithizon-CHCl₃ ở pH 9, và xác định cadimi bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa.

3 Thuốc thử

Các thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích và nước được sử dụng phải là nước cất hai lần bằng thiết bị cất thủy tinh bo silicat hoặc tối thiểu là nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có qui định khác.

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

3.2 Axit sulfuric, đậm đặc ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

3.3 Axit clohydric, loãng, 0,2 mol/l

Cho 16,5 ml axit clohydric đậm đặc ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) vào bình định mức một vạch dung tích 1 000 ml và pha loãng bằng nước đến vạch. Trộn đều.

3.4 Hydro peroxit, đậm đặc (50 %).

3.5 Axit xitric ngâm một phân tử nước.

3.6 Natri hydroxit, dung dịch 0,05 mol/l.

3.7 Chỉ thị xanh thymol

Nghiền 0,1 g chất chỉ thị xanh thymol trong cối mã nã với 4,3 ml dung dịch natri hydroxit (3.6). Pha loãng bằng nước đến 200 ml trong bình cầu.

3.8 Dung dịch amoniac, dung dịch 28 % đến 30 %.

3.9 Cloroform.

3.10 Dithizon, dung dịch 1,0 mg/ml

Cho 0,2 g dithizon vào bình định mức 200 ml và thêm cloroform đến vạch.

3.11 Dithizon, dung dịch 0,2 mg/ml

Pha loãng một thể tích dung dịch dithizon (3.10) với 4 thể tích cloroform (3.9). Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

3.12 Dung dịch cadimi chuẩn, tương đương với nồng độ cadimi 1,0 mg/ml.

4 Thiết bị, dụng cụ

Dụng cụ thủy tinh sử dụng phải được rửa trước bằng axit nitric 8 mol/l, sau đó tráng kỹ bằng nước.

Đậy các cốc có mỏ bằng mặt kính đồng hồ trong suốt quá trình thao tác.

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

4.1 Máy nghiền cơ, có lớp lót và các lưỡi dao bên trong làm từ polytetraflorđetylen (PTFE).

4.2 Bình đáy tròn, dung tích 1 500 ml.

4.3 Cốc có mỏ, dung tích 400 ml.

4.4 Bình định mức một vạch, dung tích 50 ml, 100 ml và 1 000 ml.

4.5 Pipet, dung tích thích hợp.

4.6 Dụng cụ phân tách, dung tích 125 ml và 250 ml.

4.7 Máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử, có một đầu đốt không khí/axetylen (10 cm), thích hợp để xác định ở bước sóng 228,8 nm.

4.8 Đầu đốt hoặc măng xông đốt.

4.9 Bếp điện.

4.10 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.

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nếu không có tiêu chuẩn quy định riêng cho sản phẩm thì các bên có liên quan cần thoả thuận về vấn đề này.

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 bằng trong bình kín và chuyển toàn bộ nước tan ra vào máy trộn.

6.2 Phần mẫu thử

Cân 50 g mẫu thử (6.1), chính xác đến 0,01 g, cho vào bình cầu đáy tròn 1 500 ml (4.2).

6.3 Phân huỷ

Nếu phần mẫu thử có chứa etanol, thì trước tiên phải loại bỏ hết etanol bằng cách làm bay hơi.

Thêm vài mảnh hoặc hạt chống trào và cẩn thận thêm 25 ml axit nitric (3.1). Đậy nắp và làm ấm nhẹ sử dụng đầu đốt hoặc măng xông đốt (4.8) để phản ứng bắt đầu.

Khi phản ứng đã giảm, thêm 25 ml axit nitric (3.1), làm ấm trở lại và tiếp tục tiến hành như vậy cho đến khi bổ sung hết 100 ml axit nitric (3.1). Hoặc là, cẩn thận chuyển luôn 100 ml axit nitric (3.1) vào phần mẫu thử một lần và để yên ở nhiệt độ phòng qua đêm.

Đun nóng cho đến khi phần lớn khói NO thoát ra hết; kiểm soát tránh tạo bọt quá mức bằng cách làm lạnh hoặc làm giảm nóng bằng nước từ bình rửa.

Thêm 20 ml axit sulfuric đậm đặc (3.2) vào dung dịch. Pha loãng đến xấp xỉ 300 ml bằng nước và làm bay hơi sử dụng đầu đốt hoặc mạng xông đốt (4.8) cho đến khi bắt đầu than hoá. Khi sự than hoá xảy ra mãnh liệt, cẩn thận thêm hydro peroxit (3.4), 1 ml cho một lần thêm. Để phản ứng giảm trước khi thêm phần chất oxi hóa tiếp theo, không thêm quá 1 ml cho một lần. Tiếp tục thêm hydro peroxit cho đến khi thu được dung dịch không màu.

Đun mạnh cho đến khi tạo khói SO_3 , thêm nhiều hydro peroxit (3.4) hơn nếu cần, để loại bỏ than. Đun mạnh để đuổi hết hydro peroxit còn sót lại. Làm lạnh dịch phân huỷ không màu đến nhiệt độ phòng.

6.4 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng, sử dụng cùng quá trình phân huỷ như trong 6.3, nhưng thay phần mẫu thử bằng một lượng nước thích hợp tùy thuộc vào lượng mẫu thử được lấy để phân tích.

6.5 Chiết

CẢNH BÁO – Phương pháp được mô tả trong phần này yêu cầu sử dụng cloroform, đây là một chất độc và giải phóng ra khí ozon. Tránh hít phải và tiếp xúc với dung môi này. Tiến hành trong tủ hút khi làm việc với dung môi này và các dung dịch của nó. Cần loại bỏ cloroform thải ra và các dung dịch bằng phương thức thích hợp.

Thêm 2 g axit xitric (3.5) vào dung dịch phân huỷ mẫu hoặc dung dịch thử trắng đã được làm lạnh và pha loãng cẩn thận bằng nước đến khoảng 25 ml. Thêm 1 ml chất chỉ thị xanh thymol (3.7) trong khi vẫn làm lạnh trong bể đá và điều chỉnh pH đến 8,8 bằng cách từ từ bổ sung dung dịch amoni (3.8), cho đến khi dung dịch chuyển từ màu xanh vàng sang màu xanh lục. Chuyển lượng này vào dụng cụ phân tách (4.6) và pha loãng bằng nước đến khoảng 150 ml.

Làm lạnh dung dịch và chiết bằng dung dịch dithizon đậm đặc (3.10) hai lần mỗi lần 5 ml, lắc 1 min đến 2 min cho mỗi lần thêm. Tiếp tục chiết bằng dung dịch dithizon loãng (3.11) mỗi lần 5 ml cho đến khi dịch chiết dithizon không đổi màu. Trộn các dịch chiết dithizon trong dụng cụ phân tách 125 ml (4.6); rửa bằng 50 ml nước, và chuyển dung môi vào dụng cụ phân tách 125 ml khác. Chiết nước rửa bằng 5 ml cloroform (3.9) và chuyển vào dịch chiết dithizon.

Thêm 50 ml axit clohydric loãng (3.3) vào dịch chiết dithizon đã trộn lẫn, lắc kỹ trong 1 min và để phân lớp; loại bỏ dithizon. Rửa dịch lỏng bằng 5 ml cloroform (3.9) và loại bỏ cloroform.

Chuyển hết lượng dịch lỏng vào một cốc có mỏ 400 ml (4.3), thêm vài mảnh chống trào và làm bay hơi cẩn thận trên bếp điện (4.9) cho đến khi khô hẳn.

Tráng rửa cẩn thận các mặt của cốc có mỏ bằng 10 ml đến 20 ml nước và để bay hơi tiếp cho đến khô.

Hoà tan phần cặn khô trong 5,0 ml dung dịch axit clohydric (3.3).

6.6 Xác định

6.6.1 Xây dựng đường chuẩn

Pha loãng dung dịch cadimi chuẩn (3.12) bằng axit clohydric (3.3) để thu được bốn dung dịch có nồng độ cadimi là 0,1 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1,0 µg/ml và 2,0 µg/ml.

Phun lần lượt từng dung dịch này vào ngọn lửa của máy quang phổ (4.7) sử dụng 4 lần đến 10 lần thang mở rộng để thu được giá trị hấp thụ tối đa cho dung dịch có nồng độ cadimi 2,0 µg/ml. Sử dụng axit clohydric (3.3) làm mẫu trắng.

Cẩn thận giữ tốc độ phun không đổi trong suốt quá trình phun từng dịch chuẩn.

Dập tắt đầu đốt bằng nước sau mỗi lần đo.

Ghi lại các giá trị tương ứng của độ hấp thụ và vẽ đồ thị đường chuẩn (độ hấp thụ theo nồng độ cadimi tính theo microgam trên mililit).

6.6.2 Đo quang phổ

Đặt dụng cụ đo vào điều kiện tối ưu đã đặt trước, sử dụng ngọn lửa oxi hóa không khí-axetylen và ở bước sóng cộng hưởng 228,8 nm.

Phun vào ngọn lửa quang phổ kế (4.7) dung dịch thử (6.5) và dung dịch trắng (6.4) với cùng tốc độ phun như cách tiến hành để xây dựng đường chuẩn (6.6.1). Ghi lại độ hấp thụ tương ứng.

Nếu độ hấp thụ của dung dịch thử lớn hơn độ hấp thụ lớn nhất của dung dịch chuẩn sử dụng để xây dựng đường chuẩn (6.6.1), thì pha loãng dung dịch thử bằng axit clohydric (3.3) và đo độ hấp thụ.

7 Tính toán

Hàm lượng cadimi trong mẫu, biểu thị bằng miligam trên kilogam, tính theo công thức sau đây:

$$\frac{(c - c_{\text{mẫu trắng}}) \times 5}{m} \times F \quad (1)$$

trong đó

c là nồng độ cadimi của dung dịch thử đọc được từ đường chuẩn, tính bằng microgam trên mililit;

$C_{\text{Trắng}}$ là nồng độ cadimi của dung dịch mẫu trắng đọc được từ đường chuẩn, tính bằng microgam trên mililit;

m là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam;

F là hệ số pha loãng, nếu cần.

8 Độ chụm

Độ chụm của phương pháp đã được kiểm chứng bằng các nghiên cứu kết hợp trong việc xác định cadimi trong rau diếp và khoai tây; xem tài liệu tham khảo [2].

Các thông số thống kê đã được tính toán theo TCVN 6910 (ISO 5725); xem tài liệu tham khảo [3].

Bảng 1 – Kết quả độ lặp lại

Loại mẫu	Hàm lượng cadimi mg/kg	r^a mg/kg	s_r^b mg/kg
Rau diếp	0,1	0,04	0,01
	0,5	0,17	0,06
	1,5	0,26	0,09
Khoai tây	0,05	0,009	0,003
	0,2	0,05	0,02
	1,0	0,09	0,03

^a r là giới hạn lặp lại

^b s_r là độ lệch chuẩn của độ lặp lại

Bảng 2 – Kết quả độ tái lập

Loại mẫu	Hàm lượng cadimi mg/kg	R^a mg/kg	s_R^b mg/kg
Rau diếp	0,1	0,05	0,02
	0,5	0,17	0,06
	1,5	0,29	0,10
Khoai tây	0,05	0,025	0,09
	0,2	0,07	0,02
	1,0	0,19	0,07

^a R là giới hạn tái lập

^b s_R là độ lệch chuẩn của độ tái lập

9 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 lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử nghiệm đã dùng cùng với viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) 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;
- e) kết quả thu được, nếu đáp ứng được yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] AOAC Official Methods of Analysis (1995). AOAC 973.34. *Cadmium in Food*.
- [2] Gajan R.J., Gould J.H., Watts J.O., Fiorino J.A. Collaborative study of a method for the atomic absorption spectrophotometric and potarographic determination of cadmium in food. *J Assoc Off. Anal. Chem.*, 56, No. 4, 1973. pp. 876-881.
- [3] ISO 5725:1986. *Precision of test methods — Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by interlaboratory tests* [nay đã hủy].
- [4] 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.
- [5] 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.