XÁC ĐỊNH Cd, Cu, Pb và Zn TRONG SỮA BỘT BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHA LOÃNG ĐỒNG VỊ (ID-ICP-MS)

Đến tòa soạn 13 – 10 – 2014

Vũ Văn Tú, Phạm Hải Long, Nguyễn Thị Huệ
Viện Công nghệ môi trường, Viện KHCNVN, 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

SUMMARY

DETERMINATION OF Cd, Cu, Pb AND Zn IN MILK BY ISOTOPE DILUTION METHOD (ID - ICP - MS)

Metals Cd, Cu ,Pb and Zn in milk has been analyzed by isotope dilution ICP–MS. Isotopes ^{110}Cd, ^{65}Cu, Pb^{207} and ^{68}Zn were used in diluted isotopes. Found a mixture of digestates and suitable temperature to digest 0.2 g of milk . LODs and LOQs respectively from 2.0 to 16 µg.kg^{-1} and 6.0 to 48 µg.kg^{-1}. Recoveries in the range 88 to 104 % . The relative standard deviation is less than 2 %.
Từ khóa: ^{110}Cd, ^{65}Cu, Pb^{207} và ^{68}Zn, ICP-MS, phương pháp pha loãng đồng vị, sữa.

1. MỞ ĐẦU

Hàm lượng kim loại nặng trong thực phẩm được quy định rất nhỏ (QCVN 8-1:2011 BYT), đối với trẻ em thì lượng kim loại độc hại càng yêu cầu kiểm soát chặt chẽ do tính nhạy cảm của trẻ em và giới hạn tính độc của các kim loại được xác định theo hàm lượng kim loại được đưa vào/Kg trọng lượng cơ thể/ngày (WHO và FAO). Khẩu phần ăn của trẻ em từ 6-24 tháng tuổi tập trung chủ yếu là rau, sữa và bột ngũ cốc. Trong đó, sữa chiếm phần chính của khẩu phần ăn và là nguồn cung cấp dưỡng chất, năng lượng chủ yếu. Sự cần thiết và tiện dụng của sữa đã làm cho thị trường sữa bùng phát, thực tế khó có thể thống kê đầy đủ các nhãn hiệu và chủng loại sữa cũng như các dạng bột ngũ cốc. Việc lựa chọn được sữa an toàn là rất cảm tính. Theo quy định của bộ Y tế, trong giới hạn chì tối đa rất thấp 0,02 mg/Kg …

Kim loại trong sữa thường ở dạng vết. Kỹ thuật quang phổ hấp thụ nguyên tử lò graphit chỉ phát hiện tối đa với Pb là 0,1 mg/Kg trong mẫu, còn nhỏ hơn thường phép đo không ổn định, sai số có thể lên tới 100% -200%. Phương pháp

quang phổ plasma ghép nối khối phổ (ICP-MS) sử dụng kỹ thuật đo pha loãng đồng vị có độ nhạy, chính xác cao và lặp lại rất tốt. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu quy trình xác định đồng thời Cd, Cu, Pb và Zn trong mẫu sữa. Bằng phương pháp pha loãng đông vi (ZD-ICP/MS)

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết bị và hóa chất

2.1.1. Thiết bị

Máy ICP - MS: ELAN 9000 Perkin Elmer, Mỹ, Bộ đưa mẫu tự động FAST SC-2DXS , Perkin Elmer, Mỹ.. Thiết bị phân hủy mẫu Microwave Speed Wave, Đức. Micropipet 2 - 20 µL, 20 - 200 µL, 100 - 1000 µL, 1000 - 5000 µL, Epensdorf, Đức. Chén teflon 50 mL, 100 mL. Bình định mức 10, 20, 50, 100 mL. Duran, Đức.

2.1.2. Hóa chất

Các đồng vị ^{110}Cd, ^{65}Cu, và ^{68}Zn của hãng Trace Sciences International Corp.; Canada, Đồng vị ^{207}Pb của hãng SPEX CertiPrep, USA. Chuẩn ERM-BD151 của Europe. Axit HNO_3, HCl, H_2SO_4, H_3PO_4, HF, H_2O_2, chuẩn kim loai Cd, Cu, Pb, Zn của Merck và Cica, nước cất siêu sạch có điện trở 18,2 MΩ Millipore. Khí Ar > 99,999 % (> 5,0) Messer, Singapor.

2.2. Nội dung nghiên cứu

Hàm lượng Cd, Cu, Pb và Zn trong sữa thường ở dạng vết. Để có được phương pháp phân tích chính xác, chúng tôi nghiên cứu các vấn đề sau:

- *Nghiên cứu phân hủy mẫu*

* Cân 0,2 gam sữa bột vào các bình phân hủy mẫu của lò vi sóng SW-4 khác nhau, một nửa số mẫu thêm 25 µL dung dịch chuẩn (Cd 1 ppm, Cu 20 ppm, Zn 100 ppm và Pb 2 ppm), một nửa số mẫu còn lại không thêm chuẩn. Từng cặp mẫu thêm chuẩn và không thêm chuẩn được thêm 5ml axit các loại axit đặc HNO_3, HCl, H_3PO_4, H_2SO_4, hỗn hợp HNO_3 và HCl (tỷ lệ 1:3), hỗn hợp HNO_3 và H_2O_2 (tỷ lệ 4:1), hỗn hợp HNO_3 , H_2SO_4 và HF (tỷ lệ 4:1:1) và phân hủy trong lò vi sóng. Sau khi phân hủy mẫu được hòa tan và định mức tới 25 ml bằng nước cất và đem phân tích trên thiết bị ICP-MS.

* Cân 0,2 gam sữa bột vào các bình phân hủy mẫu của lò vi sóng SW-4 khác nhau, một nửa số mẫu thêm 25 µL dung dịch chuẩn (Cd 1 ppm, Cu 20 ppm, Zn 100 ppm và Pb 2 ppm), một nửa số mẫu còn lại không thêm chuẩn. Từng cặp mẫu thêm chuẩn và không thêm chuẩn được phân hủy trong lò vi sóng với nhiệt độ khác nhau. Sau khi phân hủy mẫu được hòa tan và định mức tới 25 ml bằng nước cất và đem phân tích trên thiết bị ICP-MS.

* Khảo sát lượng đồng vị thêm vào phù hợp. Để đánh giá ảnh hưởng của lượng đồng vị thêm vào thì cần biết khoảng nồng đồng trong mẫu cần phân tích. Trước tiên các mẫu sữa bột được phân tích trên ICP-MS thông thường. Xác định giá trị trung bình của các nguyên tố trong các loại mẫu. Chuẩn bị mẫu chuẩn có nồng độ tương ứng giá trị trung bình

tìm được và thêm lượng đồng vị của các nguyên tố vào mẫu tương ứng với giá trị R (R = lượng đồng vị thêm) nồng độ nguyên tố) từ 0,1 đến 10 lần. Phân tích xác định bằng kỹ thuật pha loãng đồng vị, lượng thêm chuẩn phù hợp là khi tìm được giá trị gần bằng với giá trị mẫu chuẩn.

* Khảo sát các ảnh hưởng do trùng số khối của các thành phần chính trong mẫu sữa. Để đánh giá ảnh hưởng của các thành phần trong nền mẫu cần biết các thành phần chính trong mẫu cần phân tích. Trước tiên các mẫu được phân tích trên ICP-MS thông thường. Pha mẫu có nồng độ các nguyên tố có nồng độ tương ứng với nồng độ trong mẫu. Thêm lượng Na, Ca, Mg, Ba, Sr ở mức tối đa có trong mẫu và cộng thêm 20, 40 60 và 100%. Xác định mức độ ảnh hưởng của nền.

* Xác định giới hạn phát hiện và định lượng của các nguyên tố trên thiết bị ICP-MS dựa trên các điều kiện tối ưu đã khảo sát.

* Đánh giá độ lặp, độ lệch chuẩn, độ thu hồi của phương pháp.

* Phân tích các mẫu chuẩn được công nhận bằng kỹ thuật ID-ICP-MS.

* Phân tích mẫu thực tại một số khu vực trên địa phận thành phố Hà Nội.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu phân hủy mẫu sữa bằng các hỗn axit, chất oxi hóa khác nhau

Nghiên cứu phân hủy mẫu, các loại axit và hỗn hợp các chất oxihoa đã được thử nghiệm và cho kết quả như sau:

Bảng 3.1. Kết quả khảo sát bằng quá trình xử lí mẫu Bằng các loại axit khác nhau

Bằng các loại axit khác nhau							
Loại axit							
	HNO_3	HCl	H_3PO_4	H_2SO_4	HNO_3&HCl	HNO_3&H_2O_2	HNO_3, H_2SO_4 & HF
Cd	95	85	87	85	94	97	96
Cu	97	87	85	82	95	99	95
Pb	97	83	83	80	93	98	97
Zn	98	88	88	84	96	96	96

Bảng 3.1 chỉ ra phân hủy mẫu sử dụng axit HNO_3 hay hỗn hợp HNO_3 và HCl hoặc hỗn hợp HNO_3 và H_2O_2 hoặc hỗn hợp HNO_3 , H_2SO_4 và HF đều cho hiệu suất thu hồi đối với các đồng vị tốt (từ 87 đến 98 %). Thực nghiệm quan sát nhận thấy hỗn hợp HNO_3 và H_2O_2 là cho mẫu đồng nhất và ít nguy hiểm hơn. Vì vậy, các nghiên cứu tiếp theo đều sử dụng hỗn hợp HNO_3 và H_2O_2 cho việc phân hủy mẫu.

3.2. Nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến qúa trình phân hủy mẫu sữa bột

Sau khi đã chọn được loại hỗn hợp chất phân hủy mẫu, chúng tôi tiến hành khảo sát nhiệt độ phân hủy trong lò vi sóng cho phù hợp. Các kết quả thu được như trong bảng 3.2.

Bảng 3.2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nhiệt độ phân hủy

Nguyên tố / **Nhiệt độ phân hủy trong lò vi sóng (^oC)**	**Hiệu suất thu hồi (%)**						
Cd	60	80	100	120	140	160	180
Cu	Mẫu chưa tan hết				96	97	98
Pb					95	97	97
Zn					93	95	96
Cd					96	98	96

Bảng 3.2 chỉ ra nhiệt độ phân hủy mẫu thích hợp từ 140 đến 180^{o}C. Tuy nhiên, để đảm bảo đề tài chọn nhiệt độ 160^{o}C cho các nghiên cứu tiếp theo.

3.3. Khảo sát lượng đồng vị thêm vào phù hợp cho phân tích mẫu sữa bột

Để đánh giá ảnh hưởng của lượng đồng vị thêm vào, cần biết khoảng nồng đồng vị trong mẫu cần phân tích. Trước tiên các mẫu sữa bột được phân tích trên ICP-MS thông thường. Sau khi có số liệu về khoảng nồng độ, chúng tôi đã thực nghiệm khảo sát lượng thêm đồng vị. Pha mẫu nước có nồng độ các nguyên tố có nồng độ tương ứng với nồng độ trong mẫu sữa bột sau phân hủy (Cd: 0,1 µg/L, Cu: 60 µg/L, Pb: 1,5 µg/L, Zn: 400 µg/). Thêm lượng đồng vị của các nguyên tố vào mẫu tương ứng với giá trị R (R = lượng đồng vị thêm và (nồng độ nguyên tố) từ 0,05 đến 20 lần. Kết quả phân tích được thể hiện trong bảng 3.3 như sau:

Bảng 3.3. Kết quả khảo sát lượng đồng vị

	R	-	**0,05**	**0,1**	**0,25**	**0,5**	**1**	**2**	**4**	**5**	**10**	**20**
Cd	Đồng vị giàu ^{110}Cd (µg/L)	0.000	0.005	0.01	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4	0.5	1	2
	tỷ lệ ^{110}Cd/^{114}Cd	0.435	0.569	0.763	1.288	2.158	3.915	7.466	14.64	18.38	37.46	99.88
	Cd (µg/L)		0.130	0.106	0.102	0.101	0.100	0.099	0.098	0.097	0.094	0.070
	Độ chính xác (%)		**130**	**106**	**102**	**101**	**100**	**99**	**98**	**97**	**94**	**70**
Cu	Đồng vị giàu ^{65}Cu (µg/L)	0.000	3	6	15	30	60	120	240	300	600	1200
	tỷ lệ ^{65}Cu/^{63}Cu	0.446	0.500	0.580	0.797	1.154	1.891	3.396	6.407	7.975	16.16	42.97
	Cu (µg/L)		79.20	64.80	61.80	61.20	60.00	58.80	58.20	57.60	55.20	40.80
	Độ chính xác (%)		**132**	**108**	**103**	**102**	**100**	**98**	**97**	**96**	**92**	**68**
Pb	Đồng vị giàu ^{207}Pb (µg/L)	0.000	0.08	0.15	0.38	0.75	1.50	3.00	6.00	7.50	15.00	30.00
	tỷ lệ ^{207}Pb/^{208}Pb	0.422	0.492	0.595	0.876	1.348	2.330	4.316	8.373	10.47	21.63	59.14
	Pb (µg/L)		2.025	1.650	1.575	1.545	1.500	1.470	1.440	1.425	1.350	0.975
	Độ chính xác (%)		**135**	**110**	**105**	**103**	**100**	**98**	**96**	**95**	**90**	**65**
Zn	Đồng vị giàu ^{68}Zn (µg/L)	0.000	20	40	100	200	400	800	1600	2000	4000	8000
	tỷ lệ ^{68}Zn/^{66}Zn	0.670	0.803	0.990	1.524	2.410	4.255	8.060	15.76	19.54	41.40	110.9
	Zn (µg/L)		540.0	448.0	420.0	412.0	400.0	388.0	380.0	380.0	352.0	260.0
	Độ chính xác (%)		**135**	**112**	**105**	**103**	**100**	**97**	**95**	**95**	**88**	**65**

Kết quả bảng 3.3 chỉ ra rằng, hàm lượng thêm chuẩn trong khoảng từ 1 đến 4 lần mẫu thực thì kết quả đo được đạt 95 đến 106 phần trăm so với kết quả trong mẫu thực. Nếu việc thêm chuẩn lớn quá hoặc nhỏ quá 5 lần thì kết quả tìm được không còn chính xác.

3.4. Khảo sát các ảnh hưởng do trùng số khối của các thành phần chính trong mẫu sữa

Để đánh giá ảnh hưởng của các thành phần trong nền mẫu thì cần biết các thành phần chính trong mẫu cần phân tích. Trước tiên các mẫu sữa bột được phân tích trên ICP-MS thông thường.

Sau khi có số liệu về các thành phần chính có khả năng ảnh hưởng, đề tài đã thực nghiệm khảo sát lượng thêm đồng vị. Thêm lượng Na, Ca, Mg, Ba, Sr ở mức tối đa có trong mẫu và cộng thêm 20, 40 60 và 100%. Kết quả phân tích được thể hiện trong bảng 3.4 như sau:

Bảng 3.4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nền mẫu

Loại sữa	Lượng các yếu tố ảnh hưởng / Nguyên tố	Kết quả tìm thấy so với mẫu thực (%)				
		Max	Max + 20%	Max + 40%	Max + 60%	Max + 100%
Sữa bột	Cd	100	103	101	102	105
	Cu	100	101	104	105	108
	Pb	100	102	104	102	103
	Zn	100	103	105	103	107

Nhận xét: Kết quả bảng 3.4 chỉ ra rằng, hàm lượng thành phần chính của mẫu gần như không ảnh hưởng tới kết quả phân tích. Khi lượng Na, Ca,.. vượt tới 100% mức vẫn tồn tại trong sữa mới ảnh hưởng tới kết quả nhưng mức ảnh hưởng dương chưa tới 10%.

3.5. Xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

Xác định giới hạn phát hiện và định lượng của phương pháp dựa trên việc phân tích 7 lần mẫu hàm lượng thấp và 7 mẫu trắng. Giới hạn phát hiện và định lượng của phương pháp như sau:

Nguyên tố	LOD	LOQ
Cd (µg/L)	0,013	0,039
Cd (mg/Kg)	0,002	0,006
Cu (µg/L)	0,03	0,09
Cu (mg/Kg)	0,004	0,012
Pb (µg/L)	0,02	0,06
Pb (mg/Kg)	0,0025	0,0075
Zn (µg/L)	0,13	0,39
Zn (mg/Kg)	0,016	0,048

3.6. Đánh giá độ lặp lại, độ thu hồi

Nghiên cứu xác định độ lệch chuẩn, độ lặp lại và độ thu hồi của các nguyên tố bằng phương pháp pha loãng đồng vị ID-ICP-MS. Chúng tôi đã nghiên cứu

xác định độ lệch chuẩn, độ lặp lại và độ thu hồi của các nguyên tố trong mẫu sữa như sau:

Độ lặp lại của và độ thu hồi của Zn là 0,76% và 95%

Độ lặp lại của và độ thu hồi của Cu là 0,63% và 97%

Độ lặp lại của và độ thu hồi của Pb là 1,67% và 88%

Độ lặp lại của và độ thu hồi của Cd là 1,87% và 103%

3.7. Phân tích mẫu chuẩn.

Để đánh giá phương pháp, chúng tôi phân tích một số ERM- BD151 kết quả như sau:

Bảng 3.7. Kết quả phân tích mẫu chuẩn được công nhận

Kim loại	Kết quả phân tích (ID-ICPMS)	Giá trị được công nhận (ERM-BD151)
	mg/Kg	mg/Kg
Cd	0,109	0,106±0,013
Pb	0,210	0,207±0,014
Cu	5,09	5±0,23
Zn	45,63	44,9±2,3

Kết quả phân tích nằm trong giới hạn cho phép. Như vậy, kỹ thuật đo pha loãng đồng vị ICP-MS đảm bảo cho kết quả tốt.

3.8. Áp dụng các điều kiện tối ưu trong phân tích mẫu thực tế

Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng các nguyên tố trong sữa bột nằm trong khoảng:

Cd: 4,6 đến 64,6 µg/Kg, trung bình 8,7 µg/Kg

Pb: 46 đến 296 µg/Kg, trung bình 128 µg/Kg

Cu: 1,10 đến 24,63 mg/Kg, trung bình 5,21 mg/Kg

Zn: 14,63 đến 92,00 mg/Kg, trung bình 52,99 mg/Kg

4. KẾT LUẬN

Đã chọn được hỗn hợp axit HNO_3:H_2O_2 theo tỷ lệ 4:1 là hỗn hợp chất phân hủy. Nhiệt độ phân hủy của lò vi sóng phù hợp là 160^oC. Tỷ lệ đồng vị thêm vào thích hợp trong khoảng 1-4 lần nồng độ các nguyên tố có trong mẫu. Giới hạn phát hiện thu được nằm trong khoảng 0,002 đến 0,016 mg/Kg. Kỹ thuật phân tích này cho kết quả tốt với mẫu chuẩn ERM-BD151. Hàm lượng Cd, Cu, Pb và Zn trong sữa bột trung bình 0,0087; 5,21; 0,128 và 52,99 mg/kg tương ứng.

LỜI CẢM ƠN

Bài báo được hoàn thành trên cơ sở nghiên cứu của đề tài VAST 07.02/12-13. Tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam – 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Hội đã hỗ trợ kinh phí thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Tạ Thị Thảo, Nguyễn Văn Thuần. Ứng dụng phương pháp khối phổ cao tần cảm ứng (ICP-MS) để phân tích đánh giá hàm lượng kim loại nặng trong một số cây thuốc nam và đất trong cây thuốc. Tạp chí phân tích Hóa, Lý và Sinh học, 2010. *(xem tiếp tr.110)*