

Khả năng hiệu năng của phương pháp xác định hàm lượng kim loại nặng Pb, Cd, As, Hg trong mẫu thực phẩm và thức ăn chăn nuôi bằng ICP-MS thông qua việc tham gia các chương trình thử nghiệm thành thạo

Trần Hoàng Giang*, Đinh Viết Chiến, Nguyễn Minh Châu,
Nguyễn Quang Ngọc, Lê Thị Phương Thảo

Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia, Hà Nội, Việt Nam

(Ngày đến tòa soạn: 11/05/2023; Ngày chấp nhận đăng: 24/08/2023)

Tóm tắt

Phương pháp quang phổ plasma nguồn cảm ứng cao tần kết nối khối phổ (ICP-MS) được áp dụng để xác định hàm lượng các kim loại nặng (Pb, Cd, As, Hg) trong các mẫu thực phẩm và thức ăn chăn nuôi tại Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia do có độ chính xác cao và đáp ứng nhanh về thời gian. Mẫu thử được phân hủy trong lò vi sóng sử dụng hỗn hợp acid nitric và hydro peroxyd, cùng với chất nội chuẩn yttrium được thêm vào ngay từ đầu nhằm kiểm soát quá trình phân tích. Hiệu năng của phương pháp được đánh giá đáp ứng yêu cầu của AOAC với độ đặc hiệu tốt, đường chuẩn làm việc các nguyên tố trong khoảng từ 0,4 đến 20 $\mu\text{g/L}$, độ lệch chuẩn tương đối lặp lại $\text{RSD}_r < 3,55\%$ và độ thu hồi (R%) dao động từ 92,2 đến 103,1%. Phương pháp được khẳng định hiệu năng bằng cách tham gia các chương trình thử nghiệm thành thạo quốc tế cho kết quả đạt tất cả các chương trình tham gia trong năm 2021 và 2022 với giá trị $|z - \text{score}| \leq 2$. Kết quả là cơ sở để khẳng định năng lực của phòng thí nghiệm trong việc tuân thủ và đáp ứng các yêu cầu về đảm bảo giá trị sử dụng của phương pháp theo yêu cầu của ISO/IEC 17025, đáng tin cậy đối với khách hàng và cơ quan chức năng.

Từ khóa: Chì, cadimi, arsenic, thủy ngân, ICP-MS, hiệu năng phương pháp

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi là một trong những mối nguy về an toàn thực phẩm được người tiêu dùng và cơ quan quản lý quan tâm kiểm soát nhằm hạn chế các nguy cơ ảnh hưởng tới sức khỏe con người. Có nhiều kỹ thuật được sử dụng tại các phòng thí nghiệm trên thế giới như AAS, ICP-OES, ICP-MS... để đánh giá ô nhiễm kim loại nặng trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi [1-5]. Trong đó, phương pháp phân tích bằng ICP-MS có nhiều ưu điểm vượt trội như độ nhạy tốt, độ đặc hiệu cao, thời gian phân tích nhanh, có thể phân tích đồng thời, quá trình xử lý mẫu đơn giản nên là lựa chọn tốt đối với phòng thí nghiệm có đủ điều kiện và nguồn lực.

*Điện thoại: 0968573395

Email: thg93pt@gmail.com

Với vai trò là đơn vị đầu ngành về kiểm nghiệm thực phẩm và các sản phẩm trong chuỗi thực phẩm, Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã sử dụng nhiều phương pháp phân tích khác nhau để phân tích kim loại nặng trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi, tuy nhiên phương pháp phân tích bằng ICP-MS kết hợp xử lý mẫu bằng lò vi sóng là phương pháp được ưu tiên lựa chọn nhằm xác định các kim loại nặng trong một phạm vi đo rộng, kể cả ở mức hàm lượng vết và siêu vết.

Để đánh giá hiệu năng của phương pháp lựa chọn, phòng thí nghiệm của Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã tham gia nhiều chương trình thử nghiệm thành thạo trong nước và quốc tế nhằm đánh giá tay nghề của kiểm nghiệm viên, khẳng định độ chính xác, tin cậy của phương pháp thử. Kết quả tham gia các chương trình thử nghiệm thành thạo là cơ sở để đánh giá và duy trì năng lực của phòng thí nghiệm, tạo lòng tin đối với tổ chức công nhận, cơ quan quản lý nhà nước và khách hàng.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết bị và dụng cụ

Thiết bị phổ khối plasma cao tần cảm ứng (ICP-MS) được cung cấp bởi hãng PerkinElmer (model NexION 2000), thiết bị lò vi sóng phá mẫu Ethos up của hãng Milestone, bể rung siêu âm S100H (Elma); cân phân tích (có độ chính xác 0,1 mg) XS105 (Mettler Toledo), khí Ar tinh khiết (99,999%), khí Heli tinh khiết (99,999%) (Messer). Ngoài ra, các thiết bị, dụng cụ thông thường khác trong phòng thí nghiệm cũng được sử dụng.

2.2. Hóa chất

Các chất chuẩn đơn nguyên tố chì, cadimi, arsen, thủy ngân, nội chuẩn ytrium, dung dịch chuẩn vàng (Au) có nồng độ 1000 mg/L đều có nguồn gốc từ hãng Merck. Các dung môi, hóa chất khác gồm HNO₃ 65%; methanol (MeOH); hydro peroxid (H₂O₂) 30% cũng có nguồn gốc từ Merck (Đức). Nước sử dụng là nước deion có độ dẫn điện 18 MΩ/cm (MiliQ).

2.3. Phương pháp phân tích

2.3.1. Xử lý mẫu

Cân chính xác khoảng 0,3-0,4 g mẫu vào các bình phân hủy được làm bằng Teflon của lò vi sóng. Thêm lần lượt 1 mL nước deion; 0,5 mL chất nội chuẩn Ytrium 2 ppm; 0,5 mL dung dịch vàng có nồng độ 10 mg/L, 7 mL HNO₃ 65% và 1 mL H₂O₂ 30%. Đậy nắp bình phản ứng và đưa vào lò vi sóng đã cài đặt chương trình theo Bảng 1. Sau khi kết thúc quá trình phân hủy, mẫu được làm nguội đến nhiệt độ ít nhất 40 °C, chuyển sang bình định mức 50 mL, thêm 0,5 mL MeOH và định mức bằng nước deion đến vạch. Dung dịch mẫu thử sau đó được lọc qua màng lọc 0,45 μm và phân tích trên thiết bị ICP-MS.

Bảng 1. Chương trình phân hủy mẫu bằng lò vi sóng

<i>Giai đoạn</i>	<i>Thời gian (phút)</i>	<i>Nhiệt độ (°C)</i>
1	25	25 – 200
2	15	200
3 (Làm mát)	20	200 – 40

2.3.2. Điều kiện phân tích trên thiết bị ICP-MS

Trước khi tiến hành phân tích, thực hiện tối ưu thiết bị bằng dung dịch tuning của hãng (PerkinElmer, USA cung cấp). Sau khi tối ưu xong thu được các điều kiện vận hành được trình bày trong Bảng 2.

Bảng 2. Các thông số cài đặt thiết bị ICP-MS NexION 2000

<i>Nội dung</i>	<i>Thông số</i>
Thiết bị ICP-MS	PERKIN ELMER NEXION 2000
Công suất cao tần RF	1500 W
Lưu lượng khí ar plasma	15 mL/phút
Lưu lượng dòng khí ar phụ trợ	1,2 mL/phút
Lưu lượng dòng khí nebulize	1,0 mL/phút
Tốc độ hút mẫu	250 μ L/phút
Thời gian phân tích	100-500 ms
Số lần quét lặp lại một mẫu	3 lần
Chế độ phân tích	KED (đo va chạm động học)
Các đồng vị nguyên tố phân tích	^{208}Pb , ^{111}Cd , ^{75}As , ^{202}Hg

2.3.3. Xây dựng đường chuẩn

Các chuẩn trung gian hỗn hợp 4 nguyên tố (Pb, Cd, As, Hg) có nồng độ 100 μ g/L và 5 mg/L được chuẩn bị từ dung dịch chuẩn gốc đơn các nguyên tố có nồng độ 1000 mg/L.

Các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ lần lượt là: 0; 0,4; 1; 2; 4; 10; 20 (μ g/L) được chuẩn bị bằng cách pha loãng thích hợp các chuẩn trung gian trên trong dung dịch HNO_3 2%. Các chuẩn làm việc đều được thêm 0,5 mL chất nội chuẩn Yttrium 2 mg/L, 0,5 mL dung dịch Au 20 mg/L và 0,5 mL MeOH trước khi định mức đến vạch.

Trong phương pháp ICP-MS, tín hiệu phép đo là số đếm/giây - CPS. Đường chuẩn được xây dựng biểu diễn sự phụ thuộc tuyến tính giữa tỷ lệ số đếm của mỗi chất phân tích/chất nội chuẩn vào nồng độ chất phân tích trong dung dịch chuẩn tương ứng. Việc sử dụng nội chuẩn giúp chuẩn hóa dữ liệu phổ khối, điều này giúp loại bỏ các yếu tố không mong muốn như độ lệch giữa các mẫu, sự biến động trong độ nhạy của thiết bị đo và sự thay đổi trong điều kiện thí nghiệm. Ngoài ra, việc sử dụng nội chuẩn giúp tăng độ chính xác và độ tin cậy của kết quả phân tích trên khối phổ.

2.4. Xác định hiệu năng của phương pháp

Hiệu năng của phương pháp được xác định thông qua tham gia các chương trình thử nghiệm thành thạo. Mẫu thử nghiệm bao gồm: gạo, thức ăn chăn nuôi, mật ong, rong biển, bột cá được cung cấp bởi các tổ chức thử nghiệm thành thạo của Fapas (Proficiency testing from Fera Science Ltd.) – Anh và DMSc (Department of Medical Sciences) – Thái Lan.

2.4.1. Đánh giá độ lặp lại, độ tái lập và độ thu hồi

Kết quả đánh giá theo quy định của AOAC (2016) trong khoảng nồng độ từ 0,1-1,0 mg/kg cho phép độ lặp lại $\text{RSD}_r \leq 15\%$, độ tái lập $\text{RSD}_R \leq 22\%$, hiệu suất thu hồi% R (80-

110%); trong khoảng nồng độ 10-100 mg/kg cho phép $RSD_r \leq 5,3\%$, độ tái lập $RSD_R \leq 8\%$, hiệu suất thu hồi% R (90-107%); trong khoảng nồng độ từ 1-10 mg/kg cho phép độ lặp lại $RSD_r \leq 7,3\%$, độ tái lập $RSD_R \leq 11\%$, hiệu suất thu hồi% R (80-110%) và trong khoảng nồng độ 10-100 mg/kg cho phép $RSD_r \leq 5,3\%$, độ tái lập $RSD_R \leq 8\%$, hiệu suất thu hồi% R (90-107%).

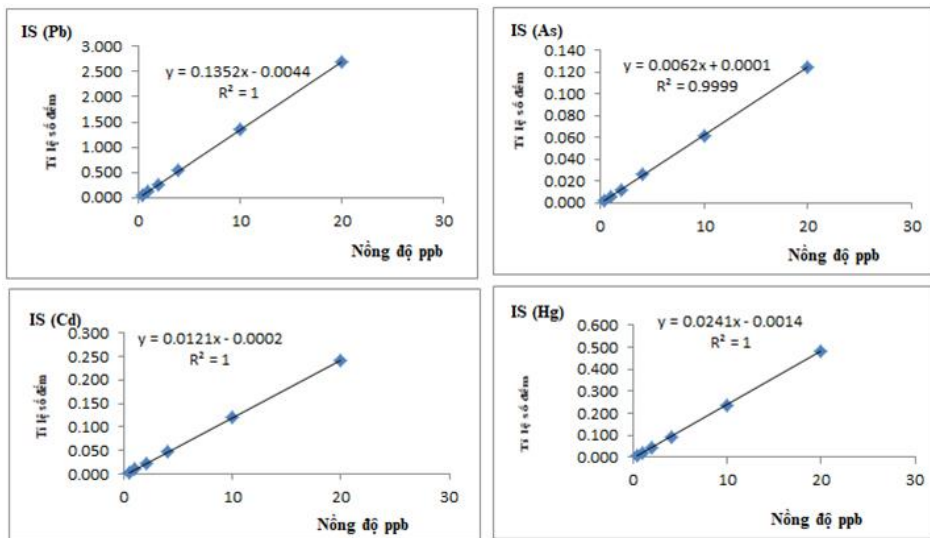
2.4.2. Đánh giá thông qua kết quả tham gia thử nghiệm thành thạo

Kết quả tham gia thử nghiệm thành thạo được đánh giá đạt yêu cầu khi giá trị $|z - score| \leq 2$.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đường chuẩn

Đường chuẩn được các kim loại (Pb, Cd, As, Hg) dựng tự động theo phần mềm của thiết bị. Kết quả đường chuẩn nội chuẩn xác định Pb, Cd, As, Hg được trình bày ở Hình 1.



Hình 1. Đường chuẩn nội chuẩn xác định Pb, Cd, As, Hg

Kết quả cho thấy trong khoảng nồng độ từ 0,4 – 20 µg/L, đường chuẩn của tất cả các nguyên tố kim loại (Pb, Cd, As, Hg) đều có hệ số tương quan tuyến tính $R^2 > 0,999$. Khoảng làm việc của đường chuẩn đáp ứng được hầu hết nồng độ các chất phân tích trong mẫu thử nghiệm thành thạo. Đường chuẩn được chuẩn bị mới hằng ngày trước khi phân tích.

3.2. Xác định hiệu năng của phương pháp

3.2.1. Kết quả đánh giá độ lặp lại, độ tái lập và độ thu hồi

Độ lặp lại thực hiện bằng cách phân tích mỗi mẫu lặp lại 4 lần, kết quả thu được độ lệch chuẩn tương đối lặp lại RSD_r (%) trong khoảng 0,32 – 3,55%.

Độ tái lập của phương pháp được đánh giá bằng cách phân tích các mẫu thử nghiệm thành thạo, mỗi mẫu phân tích thêm 4 lần trong trong hai ngày khác nhau. Kết quả phân tích, độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD_R (%) với mẫu liên phòng nằm trong khoảng 0,62 – 5,11%.

Độ thu hồi của phương pháp được đánh giá bằng cách thêm chuẩn vào mẫu thử nghiệm thành thạo, ở hai mức nồng độ 1 mg/kg và 10 mg/kg. Các kết quả phân tích cho thấy, độ thu hồi trung bình của các nguyên tố nằm trong khoảng 92,2 – 103,1%.

Kết quả đánh giá độ lặp lại, độ tái lập và độ thu hồi được thể hiện ở trong Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả độ lặp lại, độ tái lập và độ thu hồi

<i>Nền mẫu</i>	<i>Chỉ tiêu</i>	<i>Độ lặp lại RSD_r (%)</i>	<i>Độ tái lập RSD_R (%)</i>	<i>Độ thu hồi (%)</i>
Cá đóng hộp	As	1,32	1,78	98,2-99,1
	Cd	0,60	1,06	100,6-101
	Hg	1,11	1,43	97,2-98,0
Ngũ cốc dành cho trẻ sơ sinh (gạo)	As (tổng)	0,98	1,52	99,6-99,9
	Cd	0,38	0,68	100-101,6
Bột gạo	Pb	0,42	0,95	101,9-102,5
	Hg (tổng)	0,56	1,20	98,2-99,3
	As (tổng)	0,86	1,42	99,1-100,2
	Cd	0,32	0,72	101,2-102
Bột cá	Pb	0,48	0,99	101,5-102,0
	Hg (tổng)	0,61	1,11	98,0-99,4
	As (tổng)	0,88	2,15	99,5-99,8
	Cd	0,42	1,67	100,3-103,1
Rong biển	Pb	0,67	2,03	99,0-100,2
	Hg (tổng)	0,72	1,56	98,3-99,5
	As (tổng)	3,55	5,11	92,2-94,0
	Cd	1,13	3,32	94,8-95,8
	Pb	2,20	3,99	95,5-96,6
Mật ong	Hg (tổng)	1,86	3,51	97,1-98,1
	Pb	0,40	0,62	100-102,7
Thức ăn chăn nuôi	As (tổng)	3,02	3,14	96,4-97,2
	Cd	1,38	2,89	98,0-99,2
	Pb	1,89	2,65	98,6-99,5
	Hg (tổng)	1,73	2,81	96,7-98,0

Kết quả trong Bảng 3 cho thấy phương pháp phân tích các kim loại nặng (Pb, Cd, As, Hg) bằng ICP-MS có độ chính xác đáp ứng yêu cầu của AOAC với các nồng độ tương ứng. Điều này cho thấy phương pháp có độ đúng, độ chụm đáp ứng yêu cầu của AOAC.

3.2.2. Kết quả tham gia thử nghiệm thành thạo

Kết quả các mẫu thử nghiệm thành thạo sau khi chuẩn bị mẫu (mục 2.3.1) và phân tích trên thiết bị ICP-MS (mục 2.3.2) được tổng hợp trong Bảng 4 và Bảng 5. Các bảng kết quả này tổng hợp từ báo cáo kết quả của các chương trình thử nghiệm thành thạo quốc tế mà

Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã tham gia trong trong năm 2021-2022 từ các đơn vị tổ chức như của Fapas, DMSc.

Bảng 4. Kết quả phân tích mẫu thử nghiệm thành thạo năm 2021

Mã chương trình	Mã số PTN	Đơn vị tổ chức	Nền mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Kết quả phân tích (µg/kg)	Giá trị ấn định (µg/kg)	Độ lệch chuẩn σ_p	z-scoze
07411	39	Fapas	Cá đóng hộp	As (tổng)	655	749	125	-0,8
				Cd	67,5	78,3	17,2	-0,6
				Hg (tổng)	609	537	94,4	0,8
07413	47	Fapas	Ngũ cốc dành cho trẻ sơ sinh (gạo)	As (tổng)	120	113	24,9	0,3
				Cd	32,8	32,8	7,23	0,0
				Pb	48,5	44,9	9,89	0,4
				Hg (tổng)	31,3	29,6	6,51	0,3
07419	68	Fapas	Bột gạo	As (tổng)	219	211	42,6	0,2
				Cd	88,2	96,1	21,1	-0,4
				Pb	310	291	56,0	0,3
				Hg (tổng)	102	106	23,3	-0,2

Bảng 5. Kết quả phân tích mẫu thử nghiệm thành thạo năm 2022

Mã chương trình	Mã số PTN	Đơn vị tổ chức	Nền mẫu	Chỉ tiêu phân tích	Kết quả phân tích (mg/kg)	Giá trị ấn định (mg/kg)	Độ lệch chuẩn σ_p	z-scoze
BQSF ME 05-65	038	Department of Medical Sciences (DMSc)- Thái Lan	Bột cá	As (tổng)	15,1	13,2	1,6	-1,2
				Cd	0,151	0,145	0,032	-0,2
				Pb	0,121	0,121	0,027	0,00
				Hg (tổng)	0,357	0,350	0,067	-0,1
07456	42	Fapas	Rong biển	As (tổng)	3,59	4,63	0,588	-1,8
				Cd	0,113	0,157	33,1	-1,3
				Pb	1,01	1,27	0,196	-1,3
				Hg (tổng)	0,0635	0,0584	12,8	0,4
2853	48	Fapas	Mật ong	Pb	0,0589	0,0588	12,9	0,0
07462	31	Fapas	Thức ăn chăn nuôi	As (tổng)	0,320	0,335	63,2	-0,2
				Cd	0,175	0,186	38,3	-0,3
				Pb	2,68	2,75	0,378	-0,2
				Hg (tổng)	0,0451	0,0415	9,13	0,4

Kết quả tại Bảng 4 và Bảng 5 cho thấy, từ năm 2021-2022 Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đã tham gia tổng cộng 07 chương trình thử nghiệm thành thạo quốc tế với tổng số 25 chỉ tiêu kim loại nặng trong các nền mẫu thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Cả 07/07 chương trình đều đạt kết quả với giá trị $|z - score| \leq 2$. Điều đó khẳng định việc áp dụng phương pháp phân tích kim loại nặng (Pb, Cd, As, Hg) bằng ICP-MS cho kết quả chính xác. Ngoài ra, ưu điểm của phương pháp phân tích bằng ICP-MS là đáp ứng thời gian phân tích nhanh, độ nhạy, độ chọn lọc cao hơn, và giảm thiểu được ảnh hưởng nền mẫu so với phân tích bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) hay quang phổ phát xạ plasma cảm ứng (ICP-OES).

4. KẾT LUẬN

Phương pháp phân tích kim loại nặng (Pb, Cd, As, Hg) bằng ICP-MS áp dụng tại Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia đạt yêu cầu của các tiêu chí về hiệu năng phương pháp, phương pháp cũng như độ chính xác cao thể hiện qua kết quả tham gia 07 chương trình thử nghiệm thành thạo quốc tế với nhiều nền mẫu: mẫu gạo, rong biển, mật ong, bột cá, thức ăn chăn nuôi đều đạt yêu cầu ($|z - score| \leq 2$). Kết quả tham gia thử nghiệm thành thạo đạt yêu cầu là cơ sở tạo lòng tin của cơ quan quản lý, tổ chức công nhận và khách hàng đối với kết quả phân tích tại Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. B. P. Jackson & T. Punshon, "Recent advances in the measurement of arsenic, cadmium, and mercury in rice and other foods," *Current Environmental Health Reports*, vol. 2, no. 1, pp. 15–24, 2015.
- [2]. K. X. Yang & K. Swami, "Determination of metals in marine species by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry analysis," *Spectrochimica Acta, Part B: Atomic Spectroscopy*, 62, pp. 1177–1181, 2007.
- [3]. J. Djedjibegovic, T. Larssen, A. Skrbo, A. Marjanovic, M. Sober, "Contents of cadmium, copper, mercury and lead in fish from the Neretva river (Bosnia and Herzegovina) determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)," *Food Chemistry*, Vol. 131, no. 2, pp 469-476, 2012.
- [4]. Nardi, E. P., Evangelista, F. S., Tormen, L., Saint'Pierre, T. D., Curtius, A. J., Souza, S. S. de, & Barbosa, F, "The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples", *Food Chemistry*, 112(3), 727732, 2009. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.01.
- [5]. AOAC International, AOAC Official Method 2015.01, Determination of Heavy Metals in Food by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry First Action 2015.

Determination performance of ICP-MS heavy metals in food and feed test method through participation of proficiency testing programs

**Tran Hoang Giang, Dinh Viet Chien, Nguyen Minh Chau,
Nguyen Quang Ngoc, Le Thi Phuong Thao**
National Institute for Food Control, Hanoi, Vietnam

Abstract

The inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) method is applied to determine the content of heavy metals (Pb, Cd, As, Hg) in food and animal feed samples at the National Institute for Food Control due to its high accuracy and quick response time. These samples were digested in a microwave using a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide, with the yttrium internal standard added initially to control the analysis. The efficiency of the method was evaluated to meet the requirements of AOAC with reasonable specificity, working standard curve for elements in the range from 0.4 to 20 µg/L, the relative standard deviation of repeatability $RSD_r < 3,55\%$, and the recoveries (R%) ranged from 92.2 to 103.1%. The method has been validated by participating in international proficiency testing programs in 2021 and 2022 with a value of $|z\text{-score}| \leq 2$. Therefore, the results affirm the laboratory's competency meets the requirements for the validity of test results ISO/IEC 17025 requirements, reliability for customers and authorities.

Keywords: *Lead, Cadmium, Arsenic, Mercury, ICP-MS, method efficiency*