

PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ (AAS) VÀ ỨNG DỤNG TRONG KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG MỸ PHẨM

TS. Lê Thị Hương Hoa

Trường Đại học Hòa Bình

Tác giả liên hệ: lthhoa@daihochoabinh.edu.vn

Ngày nhận: 20/6/2023

Ngày nhận bản sửa: 11/9/2023

Ngày duyệt đăng: 25/9/2023

Tóm tắt

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Atomic Absorption Spectrometry - AAS) đã được ứng dụng khá rộng rãi để xác định kim loại trong nhiều loại mẫu khác nhau như: các mẫu quặng, đất, đá, nước, các mẫu của y học, sinh học, các sản phẩm công nghiệp, rau quả, thực phẩm; các nguyên tố vi lượng trong phân bón, thức ăn gia súc... Ngành Dược cũng đã áp dụng phương pháp AAS để xác định giới hạn các kim loại độc trong các dược liệu, sản phẩm mỹ phẩm, các tá dược và nguyên liệu làm thuốc, mỹ phẩm.

Bài viết đã đề cập đến các nội dung: Điều kiện để có sự hấp thụ nguyên tử, phương trình cơ bản của phép đo AAS, các quá trình thực hiện trong phép đo AAS, các phương pháp vô cơ hóa mẫu, các tác nhân vô cơ hoá, các kỹ thuật thường dùng trong AAS, các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả phân tích và một số ứng dụng của AAS trong phân tích mỹ phẩm.

Từ khóa: AAS, quang phổ hấp thụ nguyên tử, các nguyên tố độc trong mỹ phẩm, chất lượng mỹ phẩm - AAS.

Atomic Absorption Spectrometry (AAS) Method and Its Application in Cosmetic Quality Testing

Dr. Le Thi Huong Hoa

Hoa Binh University

Corresponding author: lthhoa@daihochoabinh.edu.vn

Abstract

The Atomic Absorption Spectrometry (AAS) method is widely utilized for determining metal content in various sample types, including ores, soils, rocks, water, medicines, biology, industrial products, vegetables, food, fertilizers, animal feed, and more. In the pharmaceutical industry, AAS finds application in determining the limits of toxic metals in medicinal herbs, cosmetic products, excipients, and raw materials. This article covers the conditions, basic equations, processes, sample digestion methods, digestion agents, commonly used techniques, factors affecting analytical results, and applications of AAS in cosmetic analysis. The focus is on assessing the quality of cosmetics and detecting toxic elements.

Keywords: AAS, Atomic Absorption Spectrometry, toxic elements in cosmetics, cosmetic quality-AAS.

1. Đặt vấn đề

Mỹ phẩm là loại hàng hóa được dùng một cách thường xuyên, không có liều lượng, các nguyên tố độc và hợp chất của chúng là các chất bị cấm có mặt trong các sản phẩm mỹ phẩm. Tuy nhiên, do quá trình sản xuất, bảo quản, vận chuyển có thể bị nhiễm (chưa kể có thể cố ý đưa vào công thức do một tác dụng nào đó, ví dụ, Hg trong kem làm trắng da, chống nám, chất màu cấm trong son, phấn...). Độc tính của một sản phẩm phụ thuộc rất nhiều vào hàm lượng và cách dùng, thời gian sử dụng. Vì vậy, tùy theo yêu cầu quản lý, các quốc gia đã đưa ra qui định giới hạn

3 ppm, Antimon: ≤ 5 ppm. Bộ Y tế Đức đưa ra giới hạn chấp nhận về các kim loại nặng trong thuốc đánh răng là: Chì: ≤ 1 ppm, As: $\leq 0,5$ ppm, Cd: $\leq 0,1$ ppm, Hg: $\leq 0,2$ ppm, Antimon: $\leq 0,5$ ppm [1].

Các nước ASEAN đã đưa ra kiến nghị trong Hội nghị lần thứ 8 của Hội đồng Mỹ phẩm (ACC), Hội đồng Khoa học (ASBC) và Hội đồng Tư vấn về tiêu chuẩn và chất lượng Asean (ACCSQ) tổ chức vào tháng 11 năm 2007 tại thành phố Hồ Chí Minh - Việt Nam. Điều này cũng được ghi cụ thể trong Thông tư số 06/TT-BTY/2011 của Bộ Y tế [2], cụ thể theo bảng sau:

Bảng 1. Giới hạn kim loại nặng (ACM 05 Testing Method)

STT	Chỉ tiêu	Giới hạn
1	Thủy ngân (Hg)	≤ 1 ppm
2	Arsen (As)	≤ 5 ppm
3	Chì (Pb)	≤ 20 ppm
4	Cadmi (Cd)*	≤ 1 ppm

(Cd)*: Giới hạn Cd có nêu ở phương pháp hòa hợp ASEAN, nếu vượt quá ngưỡng qui định, cần có sự cảnh báo, nhưng không nêu ở Thông tư số 06/2011/BYT-TT ngày 25 tháng 01 năm 2011 của Bộ Y tế qui định về quản lý mỹ phẩm.

Để kiểm tra chất lượng mỹ phẩm, ngoài các nội dung về yêu cầu của dạng bào chế (tính chất, pH, độ nhớt, khối lượng, các chất màu, chất giữ ẩm, dưỡng da...) và tác dụng công bố, cần đặc biệt quan tâm đến nội dung an toàn của sản phẩm, trong đó, việc kiểm tra sự có mặt của các nguyên tố độc (Chì, Arsen, Thủy ngân và Cadmi) là một trong các chỉ tiêu bắt buộc. Hiện nay, đa số các đơn vị kiểm tra chất lượng mỹ phẩm đều áp dụng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Atomic Absorption Spectrometry - AAS) để thực hiện kiểm

tra về giới hạn của các nguyên tố độc này. Hơn nữa, phương pháp AAS cũng là phương pháp được yêu cầu thực hiện theo qui định của Hiệp định hòa hợp Asean trong quản lý mỹ phẩm mà Việt Nam đã tham gia ký kết từ năm 2003 [3]. Trong bài viết này, chúng tôi muốn giới thiệu về phương pháp AAS và ứng dụng trong kiểm tra sự có mặt, cũng như hàm lượng các nguyên tố độc trong mỹ phẩm.

2. Phương pháp AAS và ứng dụng trong kiểm tra chất lượng mỹ phẩm

Sự phát hiện hiệu ứng hấp thụ nguyên tử được công bố lần đầu tiên vào năm 1802 khi Wollaston nhận thấy những vạch tối trong phổ ánh sáng mặt trời. Trong những năm gần đây, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Atomic Absorption Spectrometry - AAS) đã được ứng dụng khá rộng rãi để xác

định kim loại trong các mẫu quặng, đất, đá, nước, các mẫu của y học, sinh học, các sản phẩm công nghiệp, rau quả, thực phẩm; các nguyên tố vi lượng trong phân bón, thức ăn gia súc... Ngành Dược cũng đã áp dụng phương pháp AAS để định lượng các nguyên tố vi lượng trong các chế phẩm thuốc, xác định giới hạn các kim loại độc trong các dược liệu, sản phẩm mỹ phẩm, các tá dược và nguyên liệu làm thuốc, mỹ phẩm [4].

2.1. Điều kiện để có sự hấp thụ nguyên tử [5, 10]

Nguyên tử là phần tử nhỏ nhất giữ được tính chất của nguyên tố. Nguyên tử bao gồm hạt nhân và các electron chuyển động quanh không gian của hạt nhân trong các orbital. Trong điều kiện bình thường, nguyên tử không thu hay phát ra năng lượng dưới các dạng bức xạ. Đó là trạng thái bền vững và nghèo năng lượng nhất của nguyên tử. Nhưng khi nguyên tử ở trạng thái hơi nguyên tử tự do, nếu có chùm tia sáng chiếu vào đám hơi nguyên tử đó thì các nguyên tử tự do sẽ hấp thụ các bức xạ có bước sóng nhất định ứng với những tia bức xạ mà nó có thể phát ra được trong quá trình phát xạ. Lúc đó, nguyên tử đã nhận năng lượng từ các tia bức xạ và chuyển lên trạng thái kích thích có năng lượng cao hơn trạng thái cơ bản. Đó chính là tính chất đặc trưng của nguyên tử ở trạng thái hơi. Quá trình đó được gọi là quá trình hấp thụ năng lượng của nguyên tử. Phổ sinh ra trong quá trình này được gọi là phổ hấp thụ nguyên tử.

Khi nguyên tử hấp thụ năng lượng sẽ làm thay đổi mức năng lượng của electron trong nguyên tử nên phổ nguyên tử cũng là phổ electron. Electron trong nguyên tử tham gia hấp thụ hay phát xạ là các electron lớp ngoài cùng vì nó dễ bị kích thích nhất.

Nếu năng lượng mà nguyên tử hấp

thụ là ΔE , ta có:

$$\Delta E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

Với:

ΔE : năng lượng nguyên tử hấp thụ.

h: hằng số Planck ($6,63 \cdot 10^{-34}$ J.s).

c: vận tốc ánh sáng ($3 \cdot 10^8$ m/s).

λ : bước sóng (nm).

Như vậy, cứ mỗi giá trị năng lượng ΔE_i mà nguyên tử nhận được sẽ ứng với một độ dài sóng λ_i . Số mức năng lượng của nguyên tử ứng với số orbital là hữu hạn. Các giá trị ΔE_i mà nguyên tử có thể hấp thụ khá chênh lệch nên các bước sóng tương ứng của bức xạ điện từ là không liên tục. Do đó, phổ hấp thụ nguyên tử là các vạch hấp thụ tại các bước sóng tương ứng.

2.2. Phương trình cơ bản của phép đo AAS [5, 7]

Khi nguyên tử đang tồn tại ở trạng thái hơi tự do, nếu kích thích nó bằng một chùm tia bức xạ đơn sắc có năng lượng phù hợp, có độ dài sóng trùng với các vạch phổ phát xạ đặc trưng của nguyên tố đó thì các nguyên tử sẽ hấp thụ năng lượng của bức xạ chiếu vào nó và chuyển lên trạng thái kích thích có năng lượng cao hơn trạng thái cơ bản, sinh ra một loại phổ của nguyên tử. Quá trình này gọi là quá trình hấp thụ năng lượng của nguyên tử tự do ở trạng thái hơi và tạo ra phổ hấp thụ nguyên tử của nguyên tố đó.

Cường độ hấp thụ của một vạch phổ tuân theo định luật Lambert - Beer - Buger.

$$D = \log(I_0/I) = 2,303 \cdot K_v \cdot L \cdot N_0 \quad (1)$$

trong đó:

I_0 : Cường độ chùm sáng tới.

I: Cường độ chùm sáng sau khi đi qua môi trường hấp thụ.

D: Cường độ hấp thụ của một vạch phổ.

K_v : là một hằng số, được gọi là hệ số

hấp thụ của mỗi vạch phổ.

L: Bề dày của môi trường hấp thụ chứa nguyên tố cần phân tích ở trạng thái hơi.

N_0 : Số nguyên tử tự do của nguyên tố phân tích ở trạng thái hơi.

N_0 và nồng độ C của nguyên tố phân tích trong mẫu có mối quan hệ rất phức tạp, một cách tổng quát mối quan hệ giữa N_0 và C được xác định theo công thức:

$$N_0 = K_1 \cdot C^b \quad (2)$$

Trong đó, K_1 là hằng số thực nghiệm được xác định bởi các điều kiện hoá hơi và nguyên tử hoá mẫu phân tích. Trong những điều kiện nhất định, K_1 là hằng số, b là hằng số bản chất, được quyết định bởi mỗi loại nguyên tử và nồng độ của nó trong mẫu. Trong mọi điều kiện, ta đều có: $0 < b \leq 1$.

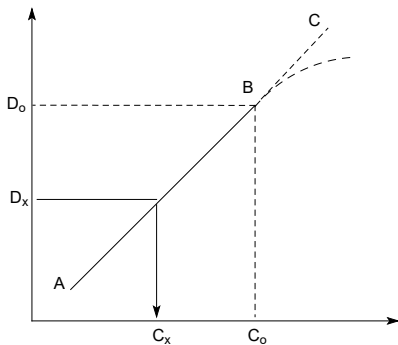
Kết hợp biểu thức (1) và (2) có:

$$D = k \cdot C^b \quad (3)$$

Trong một điều kiện thực nghiệm thì k là hằng số, nên biểu thức (3) sẽ là:

$$D = a \cdot C^b \quad (4)$$

Đây là phương trình cơ sở của phép định lượng các nguyên tố theo AAS. Đường biểu diễn phương trình này có hai đoạn AB và BC (Hình 1):



Hình 1. Mối quan hệ giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch

- Với mọi nồng độ $C_x < C_0$, quan hệ giữa D và C là tuyến tính, $b = 1$ (đoạn AB).

- Với mọi nồng độ $C_x > C_0$, quan hệ giữa D và C là không tuyến tính, $b < 1$ (đoạn BC).

C_0 được gọi là nồng độ giới hạn trên

của vùng tuyến tính AB. Trong phân tích, người ta thường chỉ sử dụng đoạn thẳng AB, vì trong đoạn này (vùng nồng độ này), đường chuẩn là một đường thẳng và việc tính toán sẽ được kết quả chính xác hơn. Nếu nồng độ chất cần nghiên cứu $C_x > C_0$ thì cần phải tiến hành pha loãng dung dịch về nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính AB.

2.3. Các quá trình thực hiện trong phép đo AAS [6, 7]

* Nguyên tắc: Muốn thực hiện được phép đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), cần phải có các quá trình sau:

- Chọn các điều kiện và trang thiết bị phù hợp để chuyển mẫu phân tích từ trạng thái ban đầu sang trạng thái hơi của nguyên tử tự do.

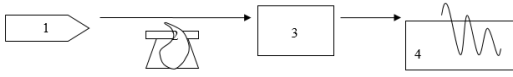
- Chiếu chùm tia sáng thích hợp (với nguyên tố cần phân tích và còn được gọi là bức xạ cộng hưởng) qua đám hơi nguyên tử vừa tạo ra ở trên. Đám hơi này chính là môi trường hấp thụ bức xạ. Các nguyên tử của nguyên tố cần phân tích trong đám hơi sẽ hấp thụ một phần bức xạ và tạo ra phổ hấp thụ nguyên tử. Phần bức xạ bị hấp thụ phụ thuộc vào nồng độ của nguyên tử đó trong môi trường hấp thụ.

Do đó, quá trình nguyên tử hoá mẫu ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả phân tích một nguyên tố. Mục đích của nguyên tử hoá mẫu là tạo ra được đám hơi các nguyên tử tự do từ mẫu phân tích với hiệu suất cao và ổn định để phép đo đạt kết quả chính xác và độ lặp lại cao.

- Nhờ các bộ phận của máy quang phổ mà người ta thu, phân ly và chọn vạch phổ của nguyên tố cần nghiên cứu và đo cường độ của nó. Cường độ đó chính là tín hiệu hấp thụ của vạch phổ hấp thụ nguyên tử. Trong một giới hạn nhất định của nồng độ C, giá trị cường độ này phụ thuộc tuyến tính vào nồng độ C của nguyên tố trong mẫu phân tích theo phương trình (4).

* *Trang bị của phép đo [6, 7]*

Một cách tổng quát, có thể minh họa hệ thống máy đo AAS gồm 4 phần chính mô tả như sơ đồ trong Hình 2.



Hình 2. Sơ đồ nguyên tắc cấu tạo hệ thống máy AAS

- *Phần 1:* Nguồn phát tia phát xạ cộng hưởng để chiếu vào môi trường hấp thụ chứa các nguyên tử tự do của nguyên tố. Nguồn có thể là đèn catot rỗng (HCL-Hollow Cathode Lamp), đèn phóng điện không điện cực (EDL-Electrodeless Discharge Lamp) hoặc nguồn phát bức xạ liên tục đã được biến điệu, các loại nguồn đơn sắc khác (ống phát xạ đặc biệt, tia laser).

- *Phần 2:* Hệ thống nguyên tử hóa mẫu phân tích. Hệ thống này được chế tạo theo ba loại kỹ thuật nguyên tử hóa mẫu, đó là:

- Kỹ thuật nguyên tử hóa mẫu bằng ngọn lửa (phép đo F-AAS) gồm 2 phần chính: buồng aerosol hóa (Nebulizer system) và đèn nguyên tử hóa mẫu (burner head).

- Kỹ thuật nguyên tử hóa mẫu không ngọn lửa (phép đo ETA-AAS) gồm 3 phần chính: cuvet hay thuyền tantan (Ta), nguồn năng lượng và bộ điều khiển.

- Kỹ thuật hóa hơi lạnh (phép đo CV-AAS) gồm: bình phản ứng, cuvet thạch anh và bộ điều khiển.

- *Phần 3:* Máy quang phổ (hệ quang và detector): có nhiệm vụ thu, tán sắc và chọn tia sáng (vạch phổ) cần đo hướng vào nhân quang điện để phát tín hiệu hấp thụ AAS của vạch phổ.

- *Phần 4:* Bộ phận Readout là bộ phận để chỉ thị kết quả đo phổ AAS. Bộ phận này có thể là một điện kế chỉ năng lượng hấp thụ của vạch phổ hay một máy tự ghi, máy in, máy tính...

2.4. Các phương pháp vô cơ hóa mẫu

[4, 6], [11, 13]

Các nguyên tố trong mẫu phân tích thường ở dạng hợp chất hữu cơ hoặc hợp chất vô cơ nhưng có lẫn các tạp chất hữu cơ. Trước khi định lượng thông thường, mẫu được vô cơ hóa và chuyển các nguyên tố cần xác định về dạng muối vô cơ hòa tan trong dung dịch đo. Các phương pháp sau hay được dùng để vô cơ hóa mẫu: Vô cơ hoá khô, vô cơ hoá ướt, vô cơ hoá trong lò vi sóng và lên men.

* *Phương pháp vô cơ hoá khô*

- *Nguyên tắc:* Đốt cháy các chất hữu cơ có trong mẫu phân tích để giải phóng kim loại ra dưới dạng oxit hoặc muối của chúng bằng nhiệt. Sau đó, hoà tan cần trong acid để tạo dung dịch.

Phương pháp này thực hiện đơn giản, vô cơ hoá được triệt để nhưng có nhược điểm chính là nhiệt độ tro hoá cao (khoảng 500 - 600°C) nên làm mất các nguyên tố dễ bị bay hơi như: Pb, Cd, Se, As, Hg... thời gian xử lý mẫu kéo dài. Người ta khắc phục bằng cách cho thêm chất bảo vệ như Mg (NO₃)₂ hoặc KNO₃ và chọn nhiệt độ thích hợp.

* *Phương pháp vô cơ hoá ướt*

- *Nguyên tắc:* Oxy hoá chất hữu cơ bằng một acid hoặc một hỗn hợp acid có tính oxy hoá mạnh thích hợp.

Phương pháp này rút ngắn được thời gian phân tích so với phương pháp vô cơ hoá khô, bảo toàn được chất phân tích (vì nhiệt độ vô cơ hoá không cao) nhưng phải dùng một lượng acid lớn (thường gấp 3 đến 5 lần mẫu). Vì vậy, phương pháp này đòi hỏi các acid sử dụng phải có độ tinh khiết cao, thời gian vô cơ hóa tương đối dài.

* *Phương pháp vô cơ hoá mẫu trong lò vi sóng*

- *Nguyên tắc:* Dùng năng lượng vi sóng đốt nóng thuốc thử và mẫu đựng trong bình kín. Trong điều kiện kín, áp

suất cao, nhiệt độ cao và các tác nhân oxy hóa, nên mẫu sẽ dễ dàng được vô cơ hóa.

Vi sóng là bức xạ điện từ có tần số cao (ở đây, lò vi sóng sử dụng sóng điện từ có tần số 2450 MHz), gồm hai trường dao động vuông góc: điện trường và từ trường. Trong đó, điện trường ứng dụng để điều khiển nhiệt độ của dung dịch theo hai cơ chế song song là: Sự quay ngẫu cực và ion dẫn điện.

- Sự quay ngẫu cực: Mô men ngẫu cực với điện trường dao động làm cho những phân tử có cực quay theo vòng quay bên (vĩnh cửu). Kết quả của sự va chạm chính là quá trình khuấy các phân tử làm năng lượng tỏa ra, vì thế, nhiệt độ của dung dịch tăng lên.

- Ion dẫn điện: Với những dung dịch có chứa ion dẫn điện, dưới tác dụng của điện trường vi sóng, các ion này di chuyển. Chính sự di chuyển của những ion dung môi đã kích thích sự dao động giữa các phân tử, năng lượng được tỏa ra và làm tăng nhiệt độ của dung dịch.

Như vậy, vật liệu đã được đốt nóng trực tiếp bằng năng lượng vi sóng. Sự phụ thuộc giữa năng lượng vi sóng và sự tăng nhiệt độ của dung dịch được thể hiện theo công thức:

$$P = \frac{K.C_p.m.dT}{t}$$

Trong đó:

P: Năng lượng vi sóng (W).

K: Hệ số nhiệt học (4,184 J/cal).

C_p : Nhiệt dung riêng của dung dịch được đốt nóng (Cal/g.°C).

m: Khối lượng của dung dịch được đốt nóng (g).

dT: Độ biến thiên nhiệt độ của dung dịch.

t: Khoảng thời gian xảy ra sự biến thiên nhiệt độ của dung dịch (s).

Đây là phương pháp xử lý mẫu hiện

đại nhất hiện nay, làm giảm đáng kể thời gian xử lý mẫu, không mất mẫu và vô cơ hoá triệt để, có thể vô cơ hoá nhiều mẫu cùng một đối tượng cùng một lúc. Có thể điều khiển quá trình vô cơ hoá từ xa bằng một máy vi tính, do đó, làm tăng độ an toàn cho người sử dụng và độ tin cậy của hệ thống. Tuy nhiên, phương pháp này chỉ vô cơ hoá được một lượng mẫu nhỏ và đòi hỏi thiết bị đắt tiền.

* *Phương pháp lên men*

- *Nguyên tắc*: Hoà tan mẫu thành dung dịch huyền phù, thêm men xúc tác và lên men ở nhiệt độ 37 - 40°C trong thời gian 7 - 10 ngày. Trong thời gian lên men, các chất hữu cơ bị phân huỷ thành khí CO₂, acid, nước và giải phóng kim loại trong hợp chất hữu cơ dưới dạng cation trong dung dịch nước.

- Phương pháp lên men là phương pháp vô cơ hoá mẫu êm dịu, không cần hoá chất, không làm mất nguyên tố cần phân tích, rất thích hợp cho việc phân huỷ các mẫu đường, nước ngọt, nước giải khát, tinh bột, nhưng thời gian xử lý mẫu lâu và phải chọn được loại men thích hợp.

* *Phương pháp chiết*

- *Nguyên tắc*: Dùng một dung môi thích hợp có khả năng tạo phức hoặc hòa tan chọn lọc nguyên tố cần phân tích để tách riêng nguyên tố này ra khỏi nền mẫu.

2.5. Các tác nhân vô cơ hoá [4, 6, 9, 10, 14]

Khi xử lý mẫu bằng phương pháp vô cơ hoá ướt và trong lò vi sóng thì việc lựa chọn các tác nhân oxy hoá phải căn cứ vào khả năng, đặc tính oxy hoá của thuốc thử và đối tượng mẫu.

Acid nitric (HNO₃): là tác nhân oxy hoá mạnh dùng để oxy hoá các chất hữu cơ, được sử dụng rộng rãi để giải phóng các nguyên tố từ các cốt sinh học và thực vật. Nhiệt độ sôi là 120°C.

Acid sulfuric (H_2SO_4): có tính oxy hoá mạnh, nhiệt độ sôi $339^\circ C$, có khả năng phá huỷ hoàn toàn hầu hết các chất hữu cơ, có thể phối hợp với HNO_3 .

Acid percloric ($HClO_4$): có tính oxy hoá mạnh, có thể ăn mòn các kim loại, không phản ứng với các acid khác, phá huỷ được các hợp chất hữu cơ. $HClO_4$ gây nổ mạnh khi tiếp xúc với nguyên liệu hữu cơ và chất vô cơ dễ bị oxy hoá nên phải oxy hoá bằng HNO_3 trước khi sử dụng $HClO_4$, nhiệt độ sôi là $200^\circ C$.

Ngoài ra, acid hydrochloric, acid hydrofluoric, hydroperoxyd... cũng được dùng làm tác nhân oxy hoá.

Trong nhiều trường hợp, phải sử dụng hỗn hợp các acid để đạt được mục đích vô cơ hoá. Các hỗn hợp hay được sử dụng: acid sulfuric - hydroperoxyd; acid nitric - hydroperoxyd; acid sulfuric - acid nitric; acid sulfuric - acid nitric - acid percloric; acid nitric - acid percloric; acid sulfuric - acid nitric - acid hydrochloric; acid sulfuric - acid nitric - acid hydrofluoric.

2.6. Các kỹ thuật thường dùng trong AAS [6, 7, 15, 16]

* *Kỹ thuật nguyên tử hoá mẫu bằng ngọn lửa (F - AAS)*

- *Nguyên tắc:* Dùng năng lượng nhiệt của ngọn lửa đèn khí để đốt cháy một hỗn hợp khí có chứa dung dịch mẫu ở thể sol khí, để hoá hơi và nguyên tử hoá mẫu phân tích.

- *Đặc điểm:*

Kỹ thuật này ra đời đầu tiên, có thể xác định nhanh, chính xác khoảng 65 nguyên tố với độ nhạy cỡ ppm. Độ nhạy của kỹ thuật này kém kỹ thuật nguyên tử hoá không ngọn lửa nhưng lại có độ ổn định cao hơn.

Trong phép đo F - AAS, mọi quá trình xảy ra trong khi nguyên tử hoá mẫu phụ thuộc vào các tính chất và đặc trưng của ngọn lửa đèn khí, chủ yếu là nhiệt độ của ngọn lửa. Nhiệt độ của ngọn lửa lại phụ thuộc rất nhiều vào bản chất,

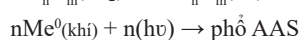
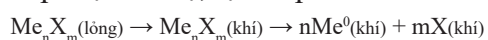
thành phần của chất khí được đốt cháy và tốc độ dẫn khí vào để tạo ra ngọn lửa.

Điều đó có nghĩa là ứng với mỗi hỗn hợp khí cháy sẽ cho ngọn lửa có nhiệt độ khác nhau. Thành phần của hỗn hợp khí cháy thay đổi thì nhiệt độ của ngọn lửa cũng bị thay đổi. Nói chung, nhiệt độ của các loại đèn khí nằm trong vùng từ $1900 - 3300^\circ C$. Hai loại hỗn hợp khí đã và đang được sử dụng phổ biến trong phép đo F - AAS là hỗn hợp của không khí nén và acetylen hoặc nitơ oxit và acetylen.

- *Các quá trình xảy ra trong ngọn lửa*

Đây là một quá trình động gồm nhiều quá trình xảy ra liên tiếp đồng thời với nhau. Mẫu phân tích đã chuẩn bị ở trạng thái dung dịch (ví dụ, dạng dung dịch muối Me_nX_m), được trộn đều với khí mang và khí cháy tạo thành các hạt sol khí (thể aerosol). Sau đó, dẫn hỗn hợp aerosol cùng hỗn hợp khí đốt vào đầu đốt. Dưới tác dụng của nhiệt độ ngọn lửa, dung môi trong các hạt sol khí bay hơi làm cho Me_nX_m trong dung dịch chuyển thành các hạt rắn nhỏ mịn. Các hạt Me_nX_m bị nóng chảy ở nhiệt độ cao chuyển sang dạng Me_nX_m lỏng. Tiếp theo là quá trình hoá hơi và nguyên tử hoá với hai cơ chế chính xảy ra như sau:

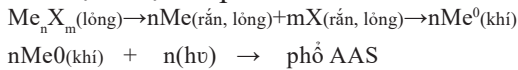
(1) Nếu $E_h < E_a$, tức là năng lượng hoá hơi E_h nhỏ hơn năng lượng nguyên tử hoá E_a thì các phân tử Me_nX_m sẽ hoá hơi. Sau đó, các phân tử khí này sẽ bị phân ly (nguyên tử hoá) thành các nguyên tử tự do. Các nguyên tử này sẽ hấp thụ bức xạ, tạo ra phổ AAS của nó.



Các muối halogenid, acetat, clorat và một số muối nitrat của các kim loại thường xảy ra theo cơ chế này. Cơ chế này cho phép đo có độ nhạy và độ ổn định cao.

(2) Nếu $E_h > E_a$, các phân tử Me_nX_m

sẽ bị phân ly thành nguyên tử. Sau đó, các nguyên tử mới hoá hơi và hấp thụ tia bức xạ để tạo ra phổ AAS của nó.



Muối sulfat, phosphat, cacbonat, nitrat và silicat của các kim loại thường xảy ra theo cơ chế này. Cơ chế này cho phép đo có độ nhạy và độ ổn định kém cơ chế 1 (tiêu biểu là các hợp chất, muối cacbonat của kim loại kiềm thổ).

Bên cạnh quá trình chính như trên, trong ngọn lửa, còn có các quá trình phụ làm ảnh hưởng đến kết quả của phép đo như:

- Quá trình ion hoá của nguyên tử phân tích, làm giảm số nguyên tử tự do trong ngọn lửa, do đó, làm giảm cường độ của vạch hấp thụ.

- Quá trình hấp thụ của các phân tử ở trạng thái hơi hoặc của các hạt mẫu rắn chưa bị hoá hơi trong ngọn lửa gây nên sự hấp thụ giả.

- Sự tạo thành các hợp chất bền nhiệt: một số kim loại có thể hình thành các hợp chất bền nhiệt kiểu monoxid. Các hợp chất này sẽ khó phân ly thành các nguyên tử tự do trong ngọn lửa đèn khí.

- Sự phát xạ của một số nguyên tử có vạch phát xạ gần với vạch phát xạ của nguyên tố phân tích sẽ sinh ra phổ nền và sự hấp thụ giả.

* *Kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa (ET - AAS)*

- *Nguyên tắc:* Quá trình nguyên tử hóa được thực hiện trong cuvet graphit và môi trường khí trơ (thường sử dụng khí argon) và xảy ra tức thời trong khoảng thời gian rất ngắn nhờ năng lượng của dòng điện công suất lớn.

- *Đặc điểm:*

- Kỹ thuật này có độ nhạy rất cao, có thể xác định nguyên tố cần phân tích ở nồng độ ng/ml (ppb). Đây là ưu điểm nổi bật của kỹ thuật này trong phân tích

các nguyên tố tồn tại ở dạng vết (không cần làm giàu mẫu, tránh nhiễm bẩn, mất mẫu...).

- Lượng mẫu nhỏ, chỉ cần từ 10-50 μl .

- *Các quá trình:*

Quá trình nguyên tử hóa mẫu phân tích xảy ra theo 3 giai đoạn kế tiếp nhau:

- Giai đoạn làm khô: Để làm bay hơi dung môi hòa tan mẫu, chuyển mẫu về dạng rắn khô mà không làm mất mẫu.

- Giai đoạn tro hóa luyện mẫu: Để tro hóa nền mẫu (đốt cháy hoàn toàn các chất hữu cơ còn lại sau giai đoạn vô cơ hóa mẫu) nhưng không được làm mất mẫu. Nhiệt độ và thời gian tro hóa mẫu có ảnh hưởng rất quan trọng đến hiệu suất nguyên tử hóa, vì vậy, cần lựa chọn nhiệt độ tro hóa mẫu phù hợp, tạo điều kiện cho giai đoạn nguyên tử hóa mẫu đạt hiệu suất cao và ổn định.

- Giai đoạn nguyên tử hóa: là giai đoạn quyết định tới cường độ vạch phổ và cũng chịu ảnh hưởng của 2 giai đoạn làm khô và tro hóa mẫu. Giai đoạn này được thực hiện trong thời gian rất ngắn (3-5 giây), nhiệt độ được tăng đột ngột (1800 - 2500°C/giây) nhằm nguyên tử hóa hoàn toàn nguyên tố cần phân tích trong khoảng thời gian ngắn nhất và cuối cùng là làm sạch cuvet.

* *Kỹ thuật hoá hơi lạnh* [2, 6, 7]

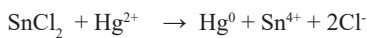
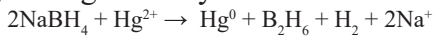
- *Nguyên tắc:*

Hai kỹ thuật nguyên tử hóa mẫu bằng ngọn lửa và không ngọn lửa đều sử dụng năng lượng nhiệt để nguyên tử hóa mẫu. Tuy nhiên, có một số nguyên tố có nhiệt độ nguyên tử hóa mẫu rất cao, nghĩa là nhiệt độ chuyển từ dạng ion về dạng nguyên tử tự do cao nhưng nhiệt độ bay hơi của chúng lại rất thấp. Do vậy, các nguyên tử tự do sẽ bị mất trong quá trình đo như:

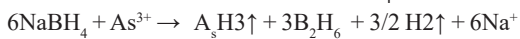


Kỹ thuật hoá hơi lạnh dựa trên việc chuyển các nguyên tố cần xác định về dạng hợp chất hydrid hoặc nguyên tử tự do dễ bay hơi. Kỹ thuật này được áp dụng cho các nguyên tố Hg, As, Se, Te, Sb, Sn, Bi... là những nguyên tố dễ bay hơi nhờ phản ứng với chất khử nào đó. Các chất khử thường được dùng là: bột Zn, bột Mg, NaBH₄, SnCl₂...

Phản ứng của NaBH₄ và SnCl₂ với Hg²⁺ trong mẫu xảy ra như sau:



hoặc phản ứng của NaBH₄ với As³⁺



Các phản ứng trên được diễn ra trong một thiết bị kín, sau đó, được dẫn tới cuvet thạch anh nằm trên đường sáng của đèn catốt rỗng nhờ một dòng khí đẩy là Ar hoặc N₂.

Do kỹ thuật hoá hơi lạnh có độ chính xác và độ nhạy cao, thao tác dễ dàng nên được áp dụng rất phổ biến.

2.7. Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả phân tích [6, 7]

Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả phân tích trong phép đo AAS rất đa dạng và phức tạp, có khi xuất hiện, cũng có khi không xuất hiện, có ảnh hưởng hay không là tùy thuộc vào thành phần của mẫu và nền của nó. Xét một cách toàn diện, có thể chia thành 6 nhóm yếu tố.

- *Nhóm 1*: là các thông số của hệ máy đo phổ. Các thông số này cần được khảo sát và lựa chọn cho từng trường hợp cụ thể.

- *Nhóm 2*: là các điều kiện nguyên tử hoá mẫu. Các yếu tố này thể hiện rất khác nhau tùy thuộc vào kỹ thuật được lựa chọn để nguyên tử hoá mẫu.

- *Nhóm 3*: là các ảnh hưởng về phổ như sự hấp thụ nền, sự chen lấn của vạch phổ và sự hấp thụ của các hạt rắn.

- *Nhóm 4*: là các kỹ thuật và phương pháp xử lý mẫu. Đây là một công việc

quan trọng có thể làm mất hay nhiễm bẩn thêm nguyên tố phân tích vào mẫu gây cho kết quả phân tích không đúng với thực tế của mẫu (các vấn đề về môi trường làm việc, dung môi hóa chất chưa đủ sạch, mức độ tinh khiết cao, nước để phân tích, các chất chuẩn, xử lý dụng cụ, phương pháp xử lý mẫu chưa phù hợp...).

- *Nhóm 5*: là các yếu tố vật lý như độ nhớt và sức căng bề mặt dung dịch mẫu thường thể hiện nhiều trong phép đo F - AAS, nhất là khi mẫu phân tích có nồng độ lớn. Các yếu tố khác như sự ion hoá và kích thích phổ phát xạ chỉ có ý nghĩa khi phân tích phổ hấp thụ của kim loại kiềm và kiềm thổ.

- *Nhóm 6*: là các yếu tố hoá học như nồng độ acid và loại acid trong dung dịch mẫu, ảnh hưởng của các cation và anion khác nhau trong dung dịch, ảnh hưởng của thành phần nền và ảnh hưởng của dung môi hữu cơ.

Vì vậy, để kết quả chính xác và tin cậy, đòi hỏi người phân tích phải biết xử lý hóa học, tách loại, làm giàu, tránh các yếu tố ảnh hưởng về mặt hoá học cũng như về phổ hấp thụ trong môi trường hợp.

2.8. Một số ứng dụng của AAS trong phân tích mỹ phẩm

Phương pháp AAS thường được ứng dụng để phân tích các kim loại độc (As, Cd, Pb, Hg...) dựa trên nguyên tắc: Các chất hữu cơ trong mẫu được đốt cháy hoàn toàn bằng phương pháp vô cơ hóa ướt hoặc vô cơ hóa khô hoặc vô cơ hóa trong lò vi sóng dưới áp suất cao và xác định hàm lượng các nguyên tố độc bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử. Chế độ đo thường là dùng kỹ thuật không ngọn lửa (nguyên tử hóa mẫu bằng lò graphit) [7, 16].

* *Chuẩn bị mẫu thử*

- *Phương pháp vô cơ hóa trong lò vi sóng* (áp dụng cho As, Cd, Pb, Hg): Cân

một lượng chính xác 0,15 - 0,2 g mẫu vào cốc teflon, thêm 3 ml acid nitric đặc, 1 ml nước oxy già 30% (có thể thêm 1 ml acid

hydrocloric nếu cần). Đậy nắp cốc, để yên 15 phút cho phản ứng. Chuyển vào lò vi sóng để vô cơ hóa theo điều kiện sau:

Bảng 2. Điều kiện vô cơ hóa mẫu trong lò vi sóng

Loại mẫu	Công suất cực đại (W)	Nhiệt độ tối đa (°C)	Áp suất tối đa (bar)	Thời gian (phút)
Kem	800	250	75	50
Phấn	1000	300	75	40
Son	900	200	75	50

Sau khi để nguội về nhiệt độ phòng, thêm 20 ml nước trao đổi ion, tráng rửa kỹ bên trong và nắp cốc bằng nước trao đổi ion. Lọc qua giấy lọc vào bình định mức 50 ml và thêm nước trao đổi ion cho đủ thể tích, lắc đều.

- *Phương pháp vô cơ hóa khô* (ứng dụng cho As, Cd, Pb): Cân một lượng chính xác 2,5 g mẫu vào cốc silica, thêm 3 ml dung dịch magnesi nitrat 50%. Bốc hơi trên cách thủy đến khô, đốt cháy cẩn đến khi không còn khói, rồi đốt ở 500°C trong 3 giờ. Để nguội, thêm 25 ml HCl 6M, khuấy đều, lọc vào bình định mức

50 ml, thêm nước vừa đủ tới vạch định mức, lắc đều được dung dịch thử để đo As, Cd, Pb.

- *Phương pháp vô cơ hóa ướt* (ứng dụng cho Hg): Cân một lượng chính xác 2,5 g mẫu vào bình có nút mài, thêm 7 ml HNO₃ đặc, đun nóng trong cách thủy ở 60°C trong 3 giờ, để nguội và hòa loãng thành 50 ml với nước, để trong tủ lạnh 24 giờ đối với mẫu kem và son. Lọc qua giấy lọc. Dung dịch được dùng để đo Hg theo kỹ thuật hóa hơi lạnh.

* *Chế độ đo*

- *Chế độ lò graphit*: ứng dụng cho As, Cd, Pb với các điều kiện đo như sau:

Bảng 3. Chế độ đo lò graphit

Đèn cathod rộng	Bước sóng (nm)	Nhiệt độ tro hóa (°C)	Nhiệt độ nguyên tử hóa (°C)	Thể tích mẫu (µl)
As	193,7	1250	2100	20
Cd	228,8	550	1550	20
Pb	283,3	550	1550	20

Chú ý:

- Dung dịch nền để đo As là dung dịch paladi (Pd) với nồng độ 1,000µg/ml.

- Dung dịch nền để đo Pb, Cd là hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch magnesi nitrat hexahydrate (Mg(NO₃)₂.6H₂O) 0,2% trong acid nitric 0,5% và dung dịch amoni dihydrophosphat (NH₄H₂PO₄) trong acid nitric 0,5%.

- *Do Arsen bằng kỹ thuật hydrid*

Cần chuẩn bị thêm như sau: Lấy 10

ml nước trao đổi ion (như là mẫu trắng chuẩn), 10 ml mỗi dung dịch trắng thử (bao gồm các thuốc thử như dung dịch thử), dung dịch mẫu chuẩn, dung dịch mẫu thử trong phần vô cơ hóa khô cho vào mỗi bình định mức 100 ml tương ứng. Thêm vào mỗi bình 10 ml HCl đặc, 10 ml hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch KI 10% và dung dịch acid ascorbic 10%. Để yên 45 phút ở nhiệt độ phòng. Thêm nước trao đổi ion vừa đủ

100 ml, lắc đều. Nồng độ cuối cùng của các dung dịch chuẩn là 2,0; 4,0; 6,0 và 8,0 µg/l.

Các điều kiện phân tích arsen và thủy ngân bằng kỹ thuật hydrid như sau:

Bảng 4. Các điều kiện phân tích arsen và thủy ngân bằng kỹ thuật hydrid

Đèn cathod rỗng	Bước sóng (nm)	Tác nhân khử hóa	Dung dịch dẫn mẫu	Nhiệt độ nguyên tử hóa (°C)	Thể tích tiêm mẫu (µl)
As	193,7	NaBH ₄ 0,2 % (trong NaOH 0,05 %)	HCl 10%	900	500
Hg	253,7	Dung dịch SnCl ₂ 1,1% (trong HCl 0,3 %) hoặc NaBH ₄ 0,2 % (trong NaOH 0,05%)	HCl 3 %	300	500

Sau đây là giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp đối với một số nguyên tố:

Bảng 5. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của các nguyên tố

Nguyên tố	LOD (µg/g)	LOQ (µg/g)
As	0,5	2,5
Cd	0,1	1,0
Pb	1,0	5,0
Hg	0,1	0,3

Tại Viện Kiểm nghiệm thành phố Hồ Chí Minh, một nghiên cứu đã dùng phương pháp vô cơ hóa khô với tác nhân vô cơ hóa là MgO, MgNO₃ và nung ở 500°C rồi hòa cần trong acid hydrochloric 4N và đo AAS với kỹ thuật hydrid [17]. Tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, đã tiến hành khảo sát, thiết lập quy trình phân tích bằng AAS, phù hợp với thiết bị đo gián đoạn tổng lượng thủy ngân, có giới hạn phát hiện 0,15 ppm [18].

3. Kết luận

Kiểm tra các nguyên tố độc trong mỹ phẩm là một trong những yêu cầu bắt buộc của công tác kiểm nghiệm chất

lượng mỹ phẩm. Theo Hiệp định hòa hợp ASEAN về quản lý mỹ phẩm, phương pháp áp dụng để kiểm tra các nguyên tố độc (As, Pb, Cd, Hg) và các muối của nó là phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử - AAS. Các nước trong khối ASEAN áp dụng phương pháp AAS, có khảo sát và đánh giá thẩm định cho từng loại mẫu cụ thể để đưa ra kết quả đúng, chính xác, tin cậy, có công bố giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) tùy theo các thiết bị AAS mình sử dụng. Phương pháp AAS đã được áp dụng ở nhiều nước tiên tiến (Châu Âu, Mỹ,...) để xác định các nguyên tố độc trong mỹ phẩm, thuốc, thực phẩm.

Tài liệu tham khảo

- [1]. Zoe Grosser, Ph.D., Lee Davidowski, Ph.D., Laura Thompson, The Determination of Metals in Cosmetics, PerkinElmer, Inc. Shelton, CT 06484 USA.
- [2]. Bộ Y tế (2011), Thông tư 06/2011/TT-BYT ngày 25 tháng 01 năm 2011 của Bộ

trường Bộ Y tế qui định về Quản lý mỹ phẩm.

[3]. ASEAN (2003), *Hiệp định hệ thống hòa hợp ASEAN trong quản lý mỹ phẩm*, Bản dịch của Cục quản lý Dược, 2008.

[4]. Trinh Văn Lầu, Bùi Thị Hòa, Nguyễn Văn Hà, Lê Thị Hường Hoa (2000), *Phân tích một số nguyên tố độc (As, Pb, Cu) trong một số chế phẩm Đông dược bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử*, Đề tài khoa học công nghệ, mã số KHYD-0235.

[5]. Trần Tử An, Thái Nguyễn Hùng Thu (2007), *Hóa phân tích*, tập 2, NXB Y học, Hà Nội, 13-80, 249-275, 311-317.

[6]. Phạm Luận (1994), *Cơ sở lý thuyết của phương pháp phân tích phổ hấp thụ nguyên tử* - Tài liệu dùng cho học viên cao học Hoá phân tích, Trường Đại học Khoa học tự nhiên - Đại học Quốc gia Hà Nội, Hà Nội.

[7]. Makoto Takagi, Trần Thị Ngọc Lan (dịch) (2010), *Các phương pháp phân tích trong hóa học*, Khoa Hóa, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia thành phố Hồ Chí Minh, 184-194.

[8]. British Pharmacopoeia Volume 4 (2010), page.A160-A165.

[9]. European Pharmacopoeia Volume 1 (2008), 37-39.

[10]. Hitachi (1997), Instruction Manual: “Mercury Analyzer Accessory” for Z-5000 series Atomic Absorption Spectrophotometer, 1st Edition.

[11]. Trần Tử An (2006), *Môi trường và độc chất môi trường*, Trường Đại học Dược Hà Nội, 138-141.

[12]. Nguyễn Thạc Cát, Từ Vọng Nghi, Đào Hữu Vinh (1985), *Cơ sở lý thuyết hóa học phân tích*, NXB Đại học và Trung học chuyên nghiệp, Hà Nội, 187-199, 346-355.

[13]. USP XXIX, Vol 2, 2558 -2560, 3050-3053.

[14]. Hseu Z-Y. (2004), “Evaluating heavy metal contents in nine composts using four digestion methods”, *Bioresourse, technology*, 95 (2004), 53-59

[15]. Hitachi Ltd. (1997), Furnace Atomization Analysis Guide for Polarized Zeeman Atomic Absorption Spectrometry, Japan.

[16]. ASEAN (2006), Determination of heavy metals (arsenic, cadmium, lead, and mercury) in cosmetic products (ACM THA 05, 12/7/2006).

[17]. Nguyễn Thanh Hà, Phạm Khánh Phong Lan (2007), “Phân tích Arsen trong một số chế phẩm kem dưỡng da bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử”, *Tạp chí Kiểm nghiệm thuốc*, 1(2007).

[18]. Lê Thị Hường Hoa, Lê Đình Chi, Đỗ Thị Thanh Thủy, Thái Nguyễn Hùng Thu (2011), “Xây dựng phương pháp xác định thủy ngân trong một số mẫu mỹ phẩm dạng kem bôi da bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử”, *Tạp chí Kiểm nghiệm thuốc*, số 1. 2011, 24-28.