

# PENENTUAN KADMIUM DALAM PRODUK PERIKANAN DENGAN GRAPHITE FURNACE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY

Willy Cahya Nugraha, Christine Elishian dan Rosi Ketrin

Pusat Penelitian Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia  
Jl. Cisitu Sangkuriang, Bandung 40135  
Telp/Fax : (022) 2503051/(022) 2503240  
E-mail: [willy\\_cahyanugraha@yahoo.com](mailto:willy_cahyanugraha@yahoo.com)

## ABSTRAK

Penentuan kadmium dalam produk perikanan telah dilakukan menggunakan *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* (GF-AAS) dengan magnesium nitrat sebagai *matrix modifier*, *platform atomization type A* dengan sensitifitas yang tinggi untuk pengukuran kadmium, dan koreksi latar belakang *Zeeman*. Metode analisis telah divalidasi berdasarkan parameter-parameter kimia analitik. Sebanyak 0,5 g sampel produk perikanan didestruksi menggunakan *microwave digestion systems* dengan menambahkan 5 mL asam nitrat pekat dan 2 mL hidrogen peroksida 30%, kemudian larutan hasil destruksi diencerkan hingga 25 g. Dari larutan ini dibuat sederet larutan untuk pengukuran secara adisi standar, dan diukur dengan GF-AAS. Akurasi metode dilakukan dengan menganalisis bahan acuan bersertifikat *DORM 3 Fish Protein Certified Reference Material for Trace Metals* dari *National Research Council Canada* dengan nilai *recovery* sebesar  $99,9 \pm 0,8\%$ . Dari hasil penelitian ini diperoleh kadar kadmium dan ketidakpastiannya sebesar  $0,273 \pm 0,025 \text{ mg kg}^{-1}$  berdasarkan berat kering.

**Kata kunci:** GF-AAS, *Microwave digestion systems*, kadmium, validasi metoda

## ABSTRACT

The determination of cadmium in the fish product was examined by *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* (GF-AAS) with magnesium nitrat as *matrix modifier*, *high sensitivity platform atomization type A* and *Zeeman background correction*. The method was validated on terms of basic analytical parameters. Accurately weighing of 0.5 g sample was digested by *microwave digestion system* with addition of 5 mL *concentric nitric acid* and 2 mL *hydrogen peroxide 30 %*. The final solution was diluted to 25 g. From this solution was made one series of addition standard, and then was measured by GF-AAS. The accuracy of the method was investigated by analyzing a *Certified Reference Materials DORM 3 Fish Protein Certified Reference Material for Trace Metals* from *National Research Council Canada* with recoveries of  $99.9 \pm 0.8\%$ . The result showed that cadmium in the sample and the uncertainty value is  $0.273 \pm 0.025 \text{ mg kg}^{-1}$  base on dry basis.

**Key words:** GF-AAS, *microwave digestion systems*, cadmium, method validation

## PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara kepulauan terbesar di dunia dengan luas laut dan jumlah pulau yang besar. Potensi tersebut memberikan peluang untuk mengembangkan usaha kelautan dan perikanan Indonesia. Diperkirakan ada sekitar 82 miliar dolar amerika per tahun yang dapat dihasilkan dari bidang ini, yang dapat dimanfaatkan untuk peningkatan ekonomi negara kita<sup>(1)</sup>.

Kualitas hidup di negara-negara maju telah memperketat persyaratan mutu untuk produk ekspor hasil perikanan dari Indonesia ke negara-negara seperti Amerika Serikat, Kanada, Uni Eropa, dan Jepang, yang selama bertahun-tahun merupakan negara tujuan ekspor perikanan Indonesia. Akan tetapi, pengetatan persyaratan mutu tersebut tidak diimbangi dengan peningkatan mutu hasil perikanan ekspor Indonesia, sehingga menimbulkan berbagai kasus penolakan ekspor, yang sangat signifikan jumlahnya di tahun 2000-2006, tetapi ternyata masih ditemukan juga beberapa kasus di tahun 2012<sup>(2,3)</sup>. Akibatnya, pendapatan ekspor Indonesia berkurang hingga ratusan juta dolar amerika setiap tahunnya<sup>(3)</sup>.

Pada umumnya kasus penolakan tersebut disebabkan oleh ditemukannya kandungan logam berbahaya, residu obat, maupun mikroorganisme<sup>(3)</sup>. Salah satu kandungan logam yang sangat berbahaya yang ditemukan dalam produk perikanan adalah kadmium. Kadmium sangat berbahaya bagi berbagai spesies ikan dan hewan lainnya karena dapat menyebabkan perubahan sifat dan pertumbuhan, maupun bentuk fisik dari beberapa hewan air. Dalam tubuh manusia kadmium dapat terakumulasi dengan cepat sedangkan proses eksresinya sangat lambat sehingga membahayakan fungsi ginjal dan hati<sup>(4)</sup>. Batas maksimum konsentrasi kadmium dalam produk ikan olahan berdasarkan Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan yaitu sebesar  $1 \text{ mg kg}^{-1}$ <sup>(5)</sup>.

Kontaminasi kadmium dapat terjadi secara alami ataupun dari kegiatan manusia. Kontaminasi secara alami terjadi karena proses pembakaran hutan ataupun ledakan gunung merapi, sedangkan kontaminasi akibat dari kegiatan manusia adalah penggunaan kadmium di industri, pemurnian dan peleburan logam ataupun hasil samping dari pembakaran bahan bakar kendaraan bermotor. Secara global kontaminasi karena kegiatan manusia adalah 3-10 kali lebih besar daripada kontaminasi alami, akibatnya kadmium menjadi salah satu unsur yang banyak dijumpai di lingkungan kita<sup>(6)</sup>.

Beberapa peralatan seperti *Flame Atomic Absorption Spectrometry* (FAAS) dan *Inductive Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry* (ICP-AES) banyak digunakan untuk menentukan unsur logam kadmium dalam produk makanan. Akan tetapi rendahnya kadar kadmium dalam sebagian besar sampel makanan membuat pengukuran dengan FAAS<sup>(7)</sup> dan ICP-OES<sup>(8,9)</sup> menjadi sulit dilakukan dan memerlukan proses pemekatan; diperlukan peralatan yang sangat sensitif seperti *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* (GF-AAS)<sup>(10,11)</sup> dan *Inductive Coupled Plasma-Mass Spectrometry* (ICP-MS)<sup>(12,13)</sup> untuk dapat menguji kadmium dalam jumlah renik (*trace*). Peralatan ICP-MS memiliki sensitifitas yang sangat unggul dibandingkan semua peralatan di atas, tetapi ICP-MS tidak dapat mentoleransi matriks sampel; diperlukan perlakuan tambahan atau pemisahan matriks sampel sebelum dilakukan pengukuran<sup>(12,13)</sup>. Selain itu, faktor harga baik dalam pengadaan maupun dalam pengoperasian cukup tinggi, sehingga tidak semua laboratorium memiliki peralatan ini. Karena itu GF-AAS diperhitungkan sebagai alat yang paling tepat untuk pengukuran logam renik dalam sampel yang kompleks, seperti pengujian kadmium dalam produk perikanan.

Peralatan GF-AAS sangat sensitif dan memiliki limit deteksi yang sangat baik untuk beberapa unsur logam, sampel yang diperlukan sangat sedikit untuk setiap kali pengukuran, serta dapat mengukur langsung sampel cair dengan viskositas tinggi dan matriks yang cukup kompleks. Gangguan dari matriks sampel diatasi dengan teknik koreksi latar belakang dan penggunaan *platform atomization* yang tepat serta dengan melakukan modifikasi secara kimia, yaitu dengan penggunaan *matrix modifier*<sup>(14)</sup>. Ada beberapa percobaan untuk membandingkan penggunaan *matrix modifier* pada pengujian kadmium dalam madu<sup>(11)</sup>, sampel biologi<sup>(14)</sup> dan air<sup>(15)</sup>.

Pada penelitian ini dikembangkan metoda pengujian penentuan kadmium dalam produk perikanan dengan menggunakan magnesium nitrat sebagai *matrix modifier*, *platform atomization type A* dengan sensitifitas yang tinggi untuk pengujian kadmium, dan koreksi latar belakang *Zeeman*. Validitas dan ketertelusuran metode diuji dengan menggunakan bahan acuan berserfikat *DORM 3 Fish protein certified reference material for trace metals* dari *National Research Council of Canada (NRCC)*. Metode ini diterapkan untuk penentuan kadmium dalam produk perikanan. Diharapkan metode yang dikembangkan ini dapat dijadikan acuan oleh laboratorium-laboratorium lain yang berkepentingan.

## BAHAN DAN METODA

### Bahan

Asam nitrat pekat (60-65%) untuk penentuan logam berbahaya produksi Kanto (Jepang) dipakai untuk pembuatan larutan standar, preparasi dan pengenceran sampel. Selain asam nitrat, digunakan pula hidrogen peroksida 30% produksi Merck (Jerman) untuk menyempurnakan oksidasi pada preparasi sampel dengan *microwave digestion*. Larutan standar kerja dibuat dengan mengencerkan larutan standar kadmium konsentrasi  $10005 \pm 19 \text{ mg kg}^{-1}$  produksi *National Institute of Standard and Technology* (NIST, Amerika). Garam  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  produksi Aldrich (Amerika) dengan kemurnian 99,995% dipakai untuk pembuatan larutan *matrix modifier*  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  0,2%. Untuk menentukan validitas dan ketertelusuran hasil pengujian digunakan *CRM DORM 3* produksi *National Research Council Canada* (NRCC, Kanada). Kalsium sulfat anhidrat produksi Merck (Jerman) digunakan sebagai bahan penyerap untuk penentuan kadar air dari sampel. Sebagai sampel adalah bahan uji profisiensi *APMP for Essential and Toxic Elements in Seafood* diproduksi oleh *The Government Laboratory Hong Kong (GLHK)*, Hong Kong dengan kadar kadmium sekitar  $0,05 - 1 \text{ mg kg}^{-1}$ .

### Peralatan

Sampel dipreparasi dengan menggunakan *Microwave Digestion System* Milestone MLS-1200 buatan Amerika. Seluruh pengenceran dilakukan dengan metode penimbangan menggunakan neraca analitik Sartorius buatan Perancis. Kemudian sampel diukur menggunakan GF-AAS *Hitachi Zeeman 5000* buatan Jepang dengan koreksi latar belakang *Zeeman* dengan *platform atomization type A* yang memiliki sensitifitas tinggi untuk pengujian kadmium. Program pengukuran yang dipilih merupakan hasil optimasi peralatan GF-AAS, yang diberikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Program GF-AAS untuk pengujian kadar kadmium dalam produk perikanan

Tahap	Temperatur Awal (°C)	Temperatur Akhir (°C)	Ramp (s)	Hold (s)	Laju alir rata-rata gas argon (mL menit <sup>-1</sup> )
<i>Drying</i>	80	140	50	0	200
<i>Ashing</i>	300	350	20	0	200
<i>Atomizing</i>	1500	1200	0	5	30
<i>Cooling</i>	1800	1800	0	4	200
<i>Cleaning</i>	0	0	0	17	200

## Metoda

Metoda yang digunakan mengacu pada metoda standar yaitu *AOAC method 999.10* tahun 2005<sup>(16)</sup> yang dimodifikasi pada jumlah sampel, jumlah pereaksi, program *microwave*, dan jenis sampel yang digunakan.

### *Preparasi sampel*

Sebanyak 0,5 g sampel dengan kadar air yang diketahui dengan pasti ditimbang dalam *microwave vessel*, kemudian ditambahkan 5 mL asam nitrat pekat dan 2 mL hidrogen peroksida 30%. Sampel didestruksi dengan daya 250 W selama 5 menit dilanjutkan dengan daya 500 W selama 15 menit, kemudian didinginkan. Proses destruksi dilakukan sebanyak 2 kali dengan program yang sama untuk menyempurnakan hasilnya. Hasil destruksi dilarutkan dengan *ultra pure water* hingga 25 g. Dari sampel ini dibuat sederet larutan untuk pengukuran secara adisi standar. Sebanyak 20 µL larutan adisi standar dicampur dengan 10 µL *matrix modifier* Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 0,2% kemudian diukur dengan GF-AAS.

### *Penentuan Kadar Air Sampel Uji Profisiensi APMP for Essential and Toxic Elements in Seafood*

Sebanyak 1 g sampel dalam cawan petri ditimbang kemudian disimpan selama 10 hari dalam desikator berisi kalsium sulfat anhidrat sebagai bahan penyerap air. Setelah 10 hari, ditimbang kembali dan dicatat hasilnya. Perlakuan tersebut dilakukan berulang-ulang sampai diperoleh berat sampel yang konstan. Nilai kadar air dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{W_s - W_i}{W_s} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

Dengan:

W<sub>s</sub> = berat sampel mula-mula (g)

W<sub>i</sub> = berat sampel setelah pengeringan (g)

### *Pengaruh Matrik*

Matriks sampel dapat berpengaruh pada pengujian, karena itu perlu dilakukan pengujian pengaruh dari matriks sampel terhadap pengukuran kadmium, yaitu dengan membandingkan kemiringan garis (*slope*) kurva kalibrasi dari larutan standar kadmium di dalam larutan asam nitrat 0,2 M dan kurva kalibrasi metode adisi standar. Perbedaan *slope* yang signifikan menunjukkan bahwa matriks sampel berpengaruh pada pengujian.

### ***Validasi metode penentuan kadmium dalam sampel produk perikanan***

Validasi dilakukan untuk membuktikan bahwa metode yang dikembangkan ini adalah tepat untuk penentuan kadmium dalam produk perikanan. Beberapa parameter yang divalidasi adalah linearitas, akurasi, presisi, limit deteksi dan limit kuantitasi<sup>(17)</sup>.

### ***Aplikasi metode analisis untuk penentuan kadar kadmium dalam sampel uji profisiensi***

Metode analisis yang dikembangkan ini diterapkan untuk pengujian kadar kadmium dalam sampel uji profisiensi *Asia Pacific Metrology Program (APMP) for essential and toxic elements in seafood*.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Verifikasi peralatan**

Verifikasi *GF-AAS* untuk penentuan logam kadmium meliputi sensitifitas dan batas deteksi alat.

Sensitifitas disebut juga sebagai konsentrasi spesifik alat yang menunjukkan nilai konsentrasi analit pada 1% Transmittan atau yang setara dengan nilai absorbansi sebesar 0,0044<sup>(18)</sup>, dihitung dengan persamaan (2)<sup>(19)</sup>. Hasil pengukuran dan nilai sensitifitas alat diberikan pada Tabel 2.

$$\text{Sensitifitas alat} = 0,0044 \times \frac{\text{konsentrasi}}{\text{absorbansi}} \dots\dots\dots (2)$$

**Tabel 2.** Hasil pengujian standar kadmium pada konsentrasi 1-10  $\mu\text{g kg}^{-1}$  untuk penentuan nilai sensitifitas alat

No.	Konsentrasi ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )	Absorbansi	Sensitifitas ( $\mu\text{g kg}^{-1} \%T^{-1}$ )
1	0,9849	0,0440	0,099
2	2,0322	0,0878	0,102
3	2,9907	0,1165	0,113
4	3,9958	0,1524	0,115
5	4,9575	0,1778	0,123
6	6,9926	0,2428	0,127
7	9,9962	0,3218	0,137
<b>Rata-rata</b>			<b>0,116</b>

Dari Tabel 2 diperoleh nilai rata-rata sensitifitas *GF-AAS* pada setiap standar kadmium adalah 0,116. Nilai yang diperoleh ini lebih kecil daripada nilai sensitifitas alat

yang tercantum pada manual alat GF-AAS Hitachi Z-5000 yaitu 0,2. Hal ini menunjukkan bahwa alat GF-AAS yang digunakan memiliki sensitifitas yang baik sehingga dapat digunakan untuk pengujian sampel.

Batas deteksi alat menyatakan nilai konsentrasi terkecil yang masih dapat dibaca oleh alat; merupakan hasil perhitungan statistik dari standar deviasi pengujian blanko standar yang dilakukan sebanyak 10 kali, sesuai dengan persamaan (3).

$$\text{Batas deteksi alat} = 3 \times sd \quad \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:  $sd$  = standar deviasi pengujian blanko standar dalam unit konsentrasi ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

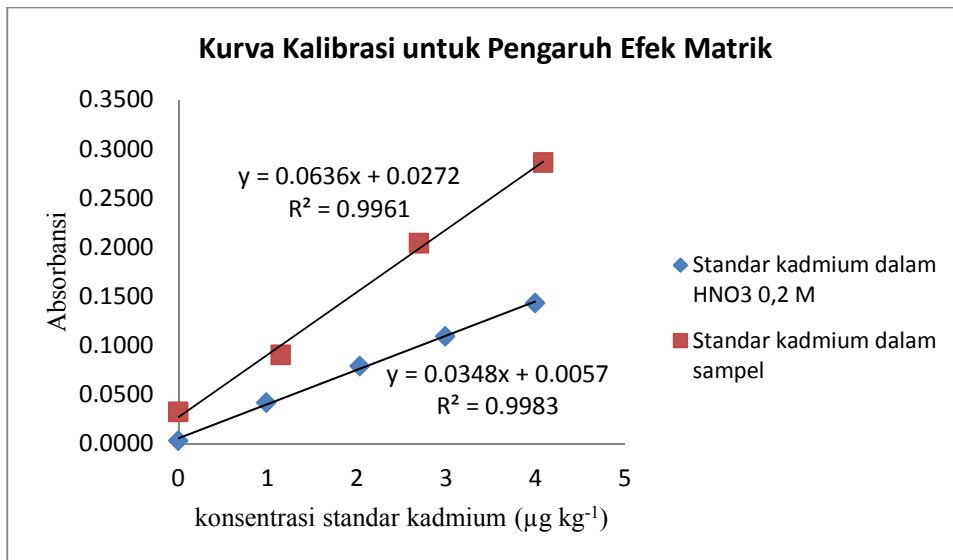
Untuk volume injeksi standar 20  $\mu\text{L}$ , diperoleh nilai batas deteksi alat GF-AAS sebesar 0,07  $\mu\text{g kg}^{-1}$  yang berarti bahwa pengujian sampel dengan konsentrasi di bawah nilai tersebut adalah tidak akan terdeteksi oleh alat.

#### **Kadar air sampel uji profisiensi dan CRM**

Kadar air perlu ditentukan sebagai faktor koreksi pada penentuan kadar kadmium yang didasarkan pada berat kering. Kadar air dari sampel adalah  $(14,38 \pm 0,02)\%$  dari rata-rata 3 replikat dan CRM adalah  $(4,59 \pm 0,16)\%$  dari rata-rata 2 replikat, yang didapatkan konstan pada hari ke 11.

#### **Pengaruh matrik sampel**

Matrik sampel dapat memberikan gangguan fisik pada pengujian nilai absorbansi. Semakin kompleks matrik suatu sampel akan memberikan pengaruh yang semakin besar karena berbagai faktor yang mempengaruhinya seperti viskositas, massa jenis dan lain sebagainya. Pada Gambar 1 ditampilkan kurva kalibrasi standar kadmium dalam  $\text{HNO}_3$  0,2 M dan kurva kalibrasi standar kadmium yang ditambahkan ke dalam sampel (adisi standar). Terlihat dari gambar adanya perbedaan *slope* yang nyata dari kedua kurva tersebut,. Hal ini menunjukkan bahwa matrik sampel sangat berpengaruh terhadap penentuan kadar kadmium. Untuk itu, metode kalibrasi eksternal tidak dapat digunakan untuk penentuan konsentrasi analit dalam sampel dan sebagai gantinya digunakan metode adisi standar<sup>(20)</sup>.



**Gambar 1.** Perbandingan kurva kalibrasi standar kadmium 0,2 M dan kurva kalibrasi standar kadmium dalam sampel dengan metode adisi standar

### Validasi metoda

Linearitas ditentukan menggunakan standar kadmium dari 0,1-10 µg kg<sup>-1</sup> dan didapatkan bahwa kurva kalibrasi linear pada rentang konsentrasi 0,2-4 µg kg<sup>-1</sup>. Limit deteksi (LoD) dan limit kuantitasi (LoQ) masing-masing adalah konsentrasi analit terendah yang dapat dideteksi dan konsentrasi analit terendah yang dapat diterima dari suatu hasil analisis, dan dihitung berdasarkan persamaan (4) dan (5), didapatkan LoD dan LoQ sebesar 0,45 µg kg<sup>-1</sup> dan 1,29 µg kg<sup>-1</sup>.

$$\text{LoD} = X_{\text{rata-rata}} + (3 \times sd) \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$\text{LoQ} = X_{\text{rata-rata}} + (10 \times sd) \quad \dots\dots\dots (5)$$

Akurasi dari metoda ini dilakukan dengan menguji *CRM DORM 3* (4 replikat pengujian) dan membandingkan hasilnya dengan nilai yang tercantum pada sertifikat, kemudian dihitung nilai *recovery* kadmium dalam *CRM DORM 3* menggunakan persamaan (6). Dapat dilihat pada Tabel 3, nilai yang diperoleh adalah sesuai dengan nilai yang tercantum pada sertifikat dengan nilai *recovery* yang baik, menyatakan bahwa metoda ini adalah valid dan akurat.

$$\text{Nilai Recovery}(\%) = \frac{\text{Nilai kadar kadmium hasil percobaan}}{\text{Nilai acuan kadar kadmium pada sertifikat}} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (6)$$



**Tabel 3.** Hasil pengukuran *CRM DORM 3* untuk menentukan akurasi metoda

Parameter	Hasil
Kadar rata-rata dan presisi <i>CRM DORM 3</i> (berat kering, mg kg <sup>-1</sup> )	0,276 ± 0,338
Kadar kadmium yang tercantum pada sertifikat (berat kering, mg kg <sup>-1</sup> )	0,290 ± 0,020
Nilai <i>Recovery</i> (%)	99,9 ± 0,8
0,67 x sd Horwitz (%) dari 4 replikat <i>CRM DORM 3</i>	12,9

Metoda yang dipakai ini tidak memberikan nilai presisi metoda, sehingga nilai keberterimaan presisi dibandingkan terhadap nilai *repeatability* dari standar deviasi Horwitz<sup>(21)</sup>. Dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{sd Horwitz} = 0,67 \times 2^{1-0,5 \log C} \dots\dots\dots (7)$$

Keterangan: C = kadar kadmium dalam fraksi konsentrasi

Dari Tabel 3, diperoleh data uji presisi metode yang dihitung berdasarkan persamaan statistik diperoleh sebesar 1,91 %*rsd*. Nilai tersebut lebih kecil dari nilai sd Horwitz yang dihitung berdasarkan persamaan (7) sebesar 12,9 %*rsd*. Hal ini menunjukkan bahwa metoda yang digunakan mempunyai tingkat presisi yang baik.

### **Aplikasi Metoda untuk Penentuan Kadar Kadmium dalam Sampel Uji Profisiensi**

Metoda ini diterapkan untuk penentuan kadar kadmium pada sampel uji profisiensi *APMP for essential and toxic elements in seafood*. Didapatkan rata-rata kadar kadmium dalam sampel dengan nilai ketidakpastiannya adalah sebesar (0,273 ± 0,025) mg kg<sup>-1</sup> berdasarkan berat kering dengan 0,34 %*rsd* dari 10 replikat. Nilai ketidakpastian ini akan dibahas lebih lanjut pada *paper* dengan Judul “Estimasi Ketidakpastian Pada Pengujian Kadmium dalam Produk Perikanan Menggunakan *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*.”

### **KESIMPULAN**

Dari hasil penelitian ini diperoleh nilai kadar kadmium dan ketidakpastiannya untuk sampel uji profisiensi *APMP for Essential and Toxic Elements in Seafood* adalah 0,273 ± 0,025 mg kg<sup>-1</sup> berdasarkan berat kering. Kadar ini berada dalam kisaran konsentrasi dari sampel tersebut, sesuai dengan informasi yang diberikan oleh penyelenggara uji profisiensi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Surat Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan No.06/MEN/2010 tentang Rencana Strategis Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2011-2014. Jakarta. 2010
2. <http://m.tempo.co/read/news/2012/10/02/090433224/Produk-Perikanan>. Produk Perikanan Indonesia sempat ditolak AS. Selasa, 02 Oktober 2012, diakses 5 November 2012.
3. <http://bogorplus.com/kabupatenbogor/67-kabbogor/4221-tahun-2010-2609-produk-pangan-indonesia-ditolak-amerika-serikat.html>, Diakses 6 maret 2012 jam 10.15 WIB
4. R. C. Okocha and O. B. Adedeji. Overview of Cadmium Toxicity in Fish. *J. Appl. Sci. Resch.* 7 :1195-1207 (2011)
5. Surat keputusan peraturan kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. HK.0006.1.52.4011 tentang Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia Dalam Bahan Makanan. Jakarta. 2009
6. M. V. Mouwerik, L. Stevens, M. D. Seese, W. Basham. Environmental Contaminants Encyclopedia Cadmium Entry. National and Service Water Resources Divisions. Colorado. 6-7(1997)
7. B. Q. Shamshad, R. K. Shahidur dan R. C. Tasrena. Studies on toxic elements accumulation in shrimp from fish feed used in Bangladesh. *As. J. Food Ag-Ind.* 2 : 440-444 (2009)
8. A. A. Momen, G. A. Zachariadis, A. N. Anthemidis, J. A. Stratis. Investigation of four digestion procedures for multi-element determination of toxic and nutrient elements in legumes by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 565 : 81–88 (2006)
9. P. Pohl, B. Prusisz. Pre-concentration of Cd, Co, Cu, Ni and Zn using different off-line ion exchange procedures followed by the inductively coupled plasma atomic emission spectrometric detection. *Anal. Chim. Acta.* 502 : 83–90 (2004)
10. J. Chwastowska, W. Skwara, E. Sterlińska, J. Dudek, M. Dbrowska dan L. Pszonicki. GF-AAS Determination of Cadmium, Lead and Copper in Environmental Materials and Food Products after Separation on Dithizone Sorbent. *Chem. Anal. (Warsaw).* 53: 887-894 (2008)
11. K. M. Mohiuddin, Y. Ogawa, H. M. Zakir, K. Otomo, N. Shikazono. Heavy metals contamination in water and sediments of an urban river in a developing country. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 8 : 723-736 (2011)
12. Y. C. Li, S. J. Jiang. Determination of Cu, Zn, Cd and Pb in Fish samples by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta.* 359: 205-212 (1998)
13. J. Yoshinaga, M. Morita, J. S. Edmonds. Determination of copper, zinc, cadmium and lead in a fish otolith certified reference material by isotope dilution inductively coupled

- plasma mass spectrometry using off-line solvent extraction. *J. Anal. At. Spectrom.* 14 : 1589-1592 (1999)
14. O. Acar. Determination of cadmium and lead in biological samples by Zeeman ETAAS using various chemical modifiers. *Talanta.* 55: 613–622 (2001)
  15. B. Welz, G. Schlemmer and J. R. Mudakavi. Palladium Nitrate - Magnesium Nitrate Modifier for Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry Part 2. Determination of Arsenic, Cadmium, Copper, Manganese, Lead, Antimony, Selenium and Thallium in Water. *J. Anal. At. Spectrom.* 3: 695-701 (1988)
  16. W. Horwitz. *Official Methods of Analysis of AOAC.* AOAC International, USA, 2005
  17. EURACHEM GUIDE. *The Fitness for Purpose of Analytical Methods.* 1<sup>st</sup> Edition, ISBN : 0-948926-12-0, United Kingdom, 1998, pp 14-29.
  18. J. Kenkel. *Analytical Chemistry for Technician.* third Edition, CRC Press LCC, USA, 200, pp 267
  19. Richard D. Beaty and Jack D. Kerber. *Concepts, instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry.* Second Edition. The Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA.1993, pp 1-7
  20. L. C. Rodrièguez, L. G. Gracia, M. Eva, A. Loèpez, J. M. B. Sendra. Calibration in Chemical Measurement Process.II A Me'thodological Approach. *Trend. Anal. Chem.* 20: 620-636 (2001)
  21. W. Horwitz. Evaluation of Analytical Methods used for Regulation of Foods and Drugs. *Anal. Chem.* 54: 67-76 (1982)