

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 11489:2016

EN 13804:2013

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM - XÁC ĐỊNH CÁC NGUYÊN TỐ VẾT
VÀ HỢP CHẤT HÓA HỌC CỦA CHÚNG -
XEM XÉT CHUNG VÀ CÁC YÊU CẦU CỤ THỂ**

*Foodstuffs - Determination of elements and their chemical species -
General considerations and specific requirements*

HÀ NỘI - 2016

Lời nói đầu

TCVN 11489:2016 hoàn toàn tương đương với EN 13804:2013;

TCVN 11489:2016 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13
Phương pháp phân tích và lấy mẫu biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn
Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm - Xác định các nguyên tố vết và hợp chất hóa học của chúng - Xem xét chung và các yêu cầu cụ thể

*Foodstuffs - Determination of elements and their chemical species -
General considerations and specific requirements*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các tiêu chí hiệu năng để lựa chọn phương pháp phân tích các nguyên tố vết và hợp chất hóa học của chúng trong thực phẩm, bao gồm các yêu cầu về hiệu năng, đặc tính và hướng dẫn để thực hiện trong phòng thử nghiệm, chuẩn bị mẫu và báo cáo thử nghiệm.

2 Chuẩn bị mẫu

2.1 Yêu cầu chung

Các mẫu thực phẩm thường được xử lý theo cùng một cách như được thực hiện trước khi sử dụng (rửa sạch, bóc vỏ, loại bỏ phần không ăn được). Ngoài các phương pháp xử lý được đề cập và nêu rõ trong 2.4.1 và 2.4.2, thì các mẫu không cần phải chế biến tiếp (nghĩa là các mẫu không cần luộc, hấp, chiên, nướng hoặc các phương pháp chế biến tương tự). Có thể thực hiện các phương pháp xử lý bổ sung như sấy để ngăn ngừa mẫu bị thối rữa. Đặc biệt, đối với các phương pháp phân tích cụ thể, thì khả năng thất thoát hoặc thay đổi các chất phân tích phải được xem xét cẩn thận. Cuối cùng, mẫu cần được đồng hóa (ví dụ bằng cách nghiền) để thu được phần mẫu thử đồng nhất. Hạn chế tối đa khả năng nhiễm và thất thoát dịch lỏng không kiểm soát được, ví dụ trong quá trình nghiền, cắt.

2.2 Thuốc thử và thiết bị, dụng cụ

Trong quá trình chuẩn bị mẫu, chỉ sử dụng nước. Có thể sử dụng nước uống được để rửa một số mẫu, ví dụ: rau. Tuy nhiên, phụ thuộc vào mục đích phân tích và nguyên tố cần xác định, có thể cần sử dụng đến nước cất (xem 3.1). Thiết bị, dụng cụ phải được thiết kế tốt nhất cho phép phân tích nguyên tố vết.

Các dụng cụ nhà bếp điển hình (ví dụ: đĩa nhựa, máy trộn salad bằng nhựa và máy nghiền cà phê) cũng có thể được sử dụng để chuẩn bị mẫu miễn là không làm ảnh hưởng đến cả mẫu và các nguyên tố cần xác định.

Bất kỳ thiết bị nào tiếp xúc trực tiếp với mẫu đều phải được làm sạch bằng chất tẩy rửa và nước nóng. Các vật chứa để bảo quản mẫu đã đồng nhất cần được xử lý bằng axit nitric loãng (khoảng 6 % tính theo thể tích) sau đó bằng nước cất, nếu thích hợp.

Khi sử dụng thiết bị bằng thép không gỉ hoặc bằng sắt để phân tích các nguyên tố vết như crom, molybden, niken và sắt có thể gây ra sự nhiễm bẩn. Trong trường hợp này, phải sử dụng các dụng cụ đặc biệt, ví dụ dao bằng titan hoặc bằng gốm, cối nghiền bằng mã não hoặc máy nghiền kiểu bi để giảm cỡ và đồng hóa mẫu. Vật liệu bằng gốm cho thấy ổn định cao về mặt cơ học và hóa học nhưng chúng có thể thay đổi về thành phần (ví dụ nhôm oxit, zircon oxit).

Trong trường hợp phân tích đặc biệt, lựa chọn cẩn thận thiết bị đồng hóa để không làm thất thoát các nguyên tố dễ bay hơi (ví dụ làm nóng mẫu trong quá trình trộn) hoặc làm nhiễm các nguyên tố cần xác định hoặc làm biến đổi các hợp chất (ví dụ, làm ẩm bằng ma sát).

2.3 Bảo quản

2.3.1 Yêu cầu chung

Cả mẫu phòng thử nghiệm và mẫu thử phải được bảo quản sao cho thành phần và khối lượng mẫu không bị thay đổi do kết quả của quá trình sấy, thất thoát do bay hơi, hư hỏng hoặc thổi rửa. Mẫu thử sau khi chuyển đến phòng thử nghiệm phải được chuẩn bị càng nhanh càng tốt.

Mẫu thử phải được bảo quản trong tủ lạnh hoặc tủ đông phụ thuộc vào bản chất của mẫu và thời gian bảo quản dự kiến. Vật chứa bằng thủy tinh, bằng chất dẻo có nắp vặn kín hoặc túi bằng chất dẻo thích hợp để bảo quản mẫu. Sản phẩm khô có thể được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

2.3.2 Bảo quản dùng cho mục đích đặc biệt

Một vài vấn đề cần lưu ý khi bảo quản các mẫu dùng cho mục đích đặc biệt. Các thông số có ảnh hưởng lớn đến phép phân tích cụ thể (xem Bảng 1) đó là:

- Nhiệt độ: Nhiệt độ bảo quản phải đủ thấp để ngăn ngừa hoạt động của vi sinh vật gây các phản ứng, ví dụ metyl hóa và phân hủy sinh học (xem Bảng 1).
- pH: Độ pH của môi trường có thể ảnh hưởng mạnh đến sự ổn định của các hợp chất vô cơ. Trong khi bảo quản, không được làm thay đổi nồng độ axit trong của các mẫu dự định để phân tích các hợp chất.

c) Ánh sáng: Ánh sáng có thể gây ra sự mất ổn định của các hợp chất cơ-kim do phân hủy quang học. Khi phân tích các hợp chất cơ-kim, mẫu phải được bảo quản ở nơi tối hoặc trong vật chứa sẫm màu.

d) Thời gian bảo quản: Nói chung, thời gian bảo quản mẫu càng ngắn càng tốt.

Bảng 1 – Ví dụ về các điều kiện bảo quản đối với mẫu dự định dùng cho mục đích đặc biệt

Nguyên tố (cụ thể)	Các điều kiện bảo quản
Thủy ngân (Hg) [Hg(II), methyl thủy ngân]	bảo quản mẫu ở 4 °C hoặc thấp hơn, nơi tối. Chỉ tiến hành pha loãng ngay trước khi phân tích
Thiếc (Sn) (hợp chất hữu cơ đã butyl hóa)	Không sử dụng vật chứa bằng polyvinyl clorua (PVC) để tránh bị nhiễm do hợp chất thiếc hữu cơ. Bảo quản mẫu trong lọ thủy tinh borosilicat ở nơi tối với nhiệt độ 4 °C hoặc thấp hơn
Crom (Cr) [Cr (III) và Cr (VI)]	Chỉ borosilicat hoặc thủy tinh thạch anh mới được sử dụng để xử lý và bảo quản. Một số dụng cụ thủy tinh có thể làm nhiễm crom. Bảo quản mẫu ở 4 °C hoặc thấp hơn. Độ pH có ảnh hưởng khác nhau đến sự ổn định của Cr.(III) và Cr (VI).
Selen (Se) [(Se (IV), Se (VI) và hợp chất đã methyl hóa]	Tránh dùng vật chứa bằng poly tetra fluoro ethylen [3]. Bảo quản ở - 20 °C hoặc thấp hơn để tránh bất kỳ sự thay đổi các hợp chất vô cơ. Môi trường axit (pH từ 1,5 đến 2) tránh quá trình oxy hóa Se (IV) thành Se (VI).
Asen (As) [(As (III), As (V) và hợp chất asen hữu cơ]	Bảo quản các mẫu ở 4 °C hoặc thấp hơn, ở nơi tối. Tránh sử dụng dụng cụ thủy tinh vì có thể làm nhiễm asenat.

2.4 Quy trình chuẩn bị mẫu

2.4.1 Yêu cầu chung

Đối với một số nguyên tố vết, áp dụng mức tối đa nêu trong TCVN 4832:2015 [4]. Ngoài ra, phương pháp chuẩn bị mẫu được nêu trong các tiêu chuẩn cụ thể.

Trong phân tích thực phẩm chỉ đánh giá xác nhận phần ăn được và các kết quả cần tham khảo tiêu chuẩn này. Các phần không sử dụng phải loại bỏ, ví dụ lá bao, vỏ, da và xương. Sự nhiễm bẩn bề mặt như đất cần được loại bỏ triệt để bằng cách dùng nước uống được hoặc nước cất để rửa sạch. Để

chuẩn bị phần mẫu thử, cần một lượng vừa đủ và đại diện từ phần ăn được của mẫu phòng thử nghiệm. Phần mẫu thử được chuẩn bị và phân tích phải được mô tả trong báo cáo thử nghiệm (ví dụ khoai tây gọt vỏ hoặc khoai tây đã rửa sạch và chưa gọt vỏ).

Rửa mẫu bằng nước trước khi cắt để tránh thôi nhiễm từ vết cắt. Sau khi rửa lại bằng nước uống được, phải rửa mẫu bằng nước cất. Nước thừa cần được loại bỏ bằng biện pháp vật lý, ví dụ bằng cách lắc, dùng sàng hoặc bộ lọc (strainer) (ví dụ: đối với các loại rau ăn lá). Loại bỏ nước thừa bằng cách dùng giấy mềm lau có thể làm nhiễm bẩn mẫu ngẫu nhiên và không được sử dụng cho phép phân tích nguyên tố vết. Có thể bỏ qua các bước rửa đối với các mẫu "ăn liền".

2.4.2 Ví dụ về việc chuẩn bị mẫu đối với một số loại thực phẩm

Có nhiều loại thực phẩm khác nhau trên thị trường. Việc chuẩn bị có thể thực hiện khác nhau giữa các sản phẩm. Vì vậy, không thể bao trùm mọi quy trình chuẩn bị trong tiêu chuẩn này. Ví dụ quy trình chuẩn bị đối với một số loại thực phẩm được nêu trong Bảng 2.

Bảng 2 – Các ví dụ về quy trình chuẩn bị mẫu

Thực phẩm	Chuẩn bị mẫu
Sữa	Lắc kỹ.
Phomat	Bỏ vỏ có tạo sập, dầu hoặc màu. Không loại bỏ lớp vỏ ăn được.
Trứng	Bỏ vỏ.
Thịt của động vật máu nóng, gan và thận	Bỏ phần mẫu không sử dụng, ví dụ xương, gân, mô liên kết và mỡ. Đồng hóa toàn bộ thận, vì một số nguyên tố có thể không được phân bố không đều trong mô thận.
Xúc xích	Loại bỏ các phần không ăn được, ví dụ lớp vỏ tổng hợp.
Cá tươi	Rửa cá bằng nước. Trong quá trình cắt, không được làm rách thành bụng để tránh làm nhiễm bẩn cơ và ruột. Chỉ đồng hóa cơ, không đồng hóa da và xương. Các loài cá thường được ăn cả xương và da (vây), ví dụ cá mòi, cá cơm, cá trích cơm (sprat) và cá trắng phải được đồng hóa toàn bộ. Điều này phải được ghi rõ trong quy trình phân tích.
Cá đóng hộp	Tách cá ra khỏi pha lỏng của sản phẩm, nếu có thể. Khi toàn bộ lượng chứa trong hộp đều ăn được thì đồng hóa toàn bộ lượng chứa trong hộp
Giáp xác và nhuyễn thể có vỏ	Đối với động vật giáp xác, đường tiêu hóa có thể nhìn thấy được cần được loại bỏ trước khi phân tích. Phần ăn được được chuẩn bị từ mẫu phòng thử nghiệm không được chứa mảnh vỏ hoặc các phần của bộ xương ngoài còn sót lại. Nếu tiến hành thử nghiệm trên các phần ăn được của động vật nhuyễn thể thì loại bỏ hết tất cả các phần của ruột (gan tụy). Đối với cua ghẹ, chỉ sử dụng thịt từ phần chân và chân càng.

Bảng 2 (kết thúc)

Thực phẩm	Chuẩn bị mẫu
Ngũ cốc	Hạt phải được tách ra khỏi vỏ trấu. Mẫu cần được nghiền đến cỡ hạt đủ thấp để thu được phần mẫu đồng nhất cho phép phân tích.
Đậu đỗ, hạt có dầu, các loại hạt	Loại bỏ các phần bị hư hỏng hoặc bị bẩn. Bỏ vỏ hạt. Đậu có thể được tách vỏ theo tập quán.
Khoai tây	Loại bỏ mầm và rửa bằng nước để loại bỏ đất. Gọt vỏ và rửa sạch bằng nước.
Rau ăn lá	Loại bỏ các phần hoặc thân cây bị bẩn, khô héo, thối và mục nát hoặc rửa, nếu cần.
Rau ăn thân củ	Loại bỏ chất bẩn, lá bị khô héo, thối và mục nát. Loại bỏ thân nếu không dùng để ăn. Rửa mẫu. Các mẫu có vỏ không ăn được (ví dụ hành tây, su hào) thì phải bóc vỏ.
Rau ăn củ	Loại bỏ phần ngọn, phần đầu, chất bẩn, các phần mục nát và rửa bằng nước. Các mẫu có vỏ không dùng để ăn (ví dụ củ cải đỏ) phải được cạo bỏ hoặc bóc vỏ trước khi rửa.
Rau đã chế biến	Không cần chuẩn bị cụ thể. Sản phẩm đóng gói trong môi trường lỏng mà dịch lỏng không sử dụng thì cần được làm ráo nước, ví dụ sử dụng bộ lọc. Sản phẩm đóng gói trong môi trường lỏng mà dịch lỏng sử dụng được thì phải đồng hóa sản phẩm cùng với dịch lỏng.
Nấm	Loại bỏ phần thối và chất bẩn. Loại bỏ lớp màng của quả thể nếu thích hợp và rửa bằng nước, nếu cần.
Quả và rau ăn quả	Bỏ cuống, đài hoa, cánh hoa, chất bẩn và các phần bị thối. Rửa mẫu và bỏ hạt, nếu cần. Quả không ăn được thì không cần rửa nhưng cần loại bỏ vỏ và hạt (ví dụ bí ngô, dưa).
Thực phẩm đã chế biến (thực phẩm đóng hộp và thực phẩm đông lạnh)	Loại bỏ nước sốt, nước muối hoặc môi trường đóng gói khác thường không dùng để ăn, bằng cách làm ráo nước. Giữ lại nước sốt/nước quả.
Thực phẩm khô	Thông thường các loại thực phẩm khô như quả được dùng để sử dụng trực tiếp, vì vậy chỉ cần chọn phần ăn được.
Rượu và đồ uống có cồn	Loại bỏ mọi mối hàn và làm sạch đầu chai hoặc đầu vật chứa cẩn thận bằng giấy mềm ẩm trước khi mở. Rượu có chất kết tủa nhìn thấy được phải được gạn trước khi lấy mẫu thử nghiệm hoặc lấy phần mẫu thử. Khử tất cả khí cacbonic trong đồ uống có cồn bằng bể siêu âm trước khi lấy mẫu hoặc lấy phần mẫu thử.
Nước khoáng và đồ uống	Dùng bể siêu âm khử khí trước khi lấy mẫu thử hoặc lấy phần mẫu thử.

2.4.3 Làm khô và làm khô lạnh

Có thể loại bỏ dịch lỏng bằng cách làm khô bằng nhiệt (làm bay hơi ẩm và alcol) hoặc bằng cách làm khô lạnh (thăng hoa nước). Tiến hành cẩn thận để tránh làm thất thoát chất phân tích hoặc làm biến đổi các hợp chất, ví dụ sử dụng nhiệt độ sấy thấp hơn. Các sản phẩm đông lạnh có thể được làm đông khô (sấy lạnh). Đảm bảo rằng sản phẩm đông khô được chuẩn bị thành lớp đủ mỏng. Các mẫu chứa alcol được loại bỏ trước khi phân hủy nên được làm khô trước để tránh những phản ứng không kiểm soát được.

2.4.4 Đồng hóa

Sau khi chuẩn bị theo Bảng 2, mẫu phải được đồng hóa bằng các thiết bị thích hợp (xem 3.3). Đối với các phép phân tích đặc biệt, cần kiểm tra để đảm bảo rằng các hợp chất không bị biến đổi trong suốt quá trình đồng hóa.

Các sản phẩm đông lạnh có thể được đồng hóa trước khi rã đông. Cần tránh làm thất thoát dịch lỏng trong quá trình rã đông. Có thể không kiểm soát được sự thất thoát của dịch lỏng, ví dụ nghiền quá mức và tiếp xúc với nhiệt độ cao. Nitor lỏng hoặc cacbon dioxit dạng tuyết cũng có thể được sử dụng để gián tiếp hỗ trợ cho quá trình đông lạnh và nghiền mẫu nhưng không được tiếp xúc với mẫu.

Việc đồng hóa các sản phẩm bán khô (ví dụ lá chè, thảo mộc, ngô và gạo) có thể đơn giản hóa bằng cách thêm lượng nước cất đã biết (xem 3.1).

3 Các yêu cầu cụ thể đối với phép phân tích các nguyên tố vết

3.1 Thuốc thử

Nồng độ của các nguyên tố vết trong nước phải đủ thấp để không làm ảnh hưởng đến kết quả của phép xác định. Nước cất có thể được tạo ra bằng cách chưng cất, ví dụ chưng cất hai lần, chưng cất trong thiết bị thạch anh, khử ion hoặc chưng cất dưới điểm sôi.

Hóa chất loại phân tích thường không đủ tinh khiết để xác định nồng độ vết của các nguyên tố. Nên sử dụng các loại hóa chất có độ tinh khiết cao. Cách khác, có thể sử dụng quy trình chưng cất dưới điểm sôi để tinh sạch thêm các axit vô cơ (axit nitric hoặc axit clohydric) dùng trong phòng thử nghiệm.

3.2 Mẫu hiệu chuẩn và mẫu chuẩn

Các chất chuẩn được sử dụng để hiệu chuẩn phải phải kèm theo giấy chứng nhận để có thể truy xuất nguồn gốc. Mẫu chuẩn (RM) được sử dụng cho mục đích kiểm soát chất lượng nội bộ khi liên kết với mẫu chuẩn được chứng nhận (CRM), khi có thể.

3.3 Vật chứa, dụng cụ thủy tinh và thiết bị

3.3.1 Yêu cầu cụ thể về thành phần

Nhìn chung, phải sử dụng thiết bị, vật chứa và dụng cụ bằng vật liệu có độ tinh sạch cao để tránh nhiễm bẩn các nguyên tố vết. Bình nón, bình định mức, cốc có mỏ, bình, đĩa, chén nung hoặc vật chứa phải được làm bằng các hợp chất fluoropolyme [ví dụ: polytetrafluoroethylen (PTFE), perfluoroalkoxyfluorocarbon (PFA)], thạch anh hoặc polyolefin (ví dụ bằng polyethylen, polypropylen). Polyolefin có thể chứa các chất xúc tác ảnh hưởng đến phép xác định các nguyên tố vết.

Sau khi làm sạch sơ bộ bằng axit loãng (ví dụ axit nitric loãng khoảng 6 % thể tích), các thiết bị, vật chứa chưa chắc đã sạch. Vì vậy, tất cả các loại vật liệu phải được kiểm tra để đảm bảo rằng các nồng độ của các nguyên tố cần xác định không bị ảnh hưởng. Tuy nhiên, cần tính đến khả năng hấp phụ trên thành khi bình được sử dụng nhiều lần hoặc bề mặt bình bị trầy xước.

Về nguyên tắc, không nên sử dụng các dụng cụ thủy tinh để xác định tổng hàm lượng các nguyên tố vết do khả năng giải phóng các chất ra khỏi thành bình cũng như việc hấp phụ các chất trên thành bình.

Khi xác định iot, chỉ nên dùng bình thủy tinh để tránh hấp phụ và giải phóng iot trong quá trình sử dụng bình.

Trong phép phân tích đặc biệt đối với hợp chất thủy ngân và thiếc, nên sử dụng các vật chứa bằng thủy tinh borosilicat sẫm màu. Tránh dùng vật chứa thủy tinh để xác định hợp chất asen hoặc crom, vì sự thôi nhiễm từ các dụng cụ thủy tinh, ví dụ asenat từ lọ nhỏ hoặc pipet thủy tinh, có thể ảnh hưởng đến mẫu và các dung dịch.

3.3.2 Làm sạch

Dụng cụ phòng thử nghiệm được sử dụng trong phép phân tích cần được làm sạch sao cho mọi chất nhiễm bẩn được loại bỏ trước khi sử dụng. Quy trình làm sạch này thường bao gồm các bước sau: rửa bằng nước uống được, xử lý bằng dung dịch tẩy rửa (không chứa các nguyên tố vết), rửa lại bằng nước uống được và để qua đêm hoặc ngâm trong axit nitric loãng một thời gian lâu hơn. Cuối cùng, rửa bằng nước cất trước khi sử dụng.

Tránh sử dụng axit sulfuric crôm để làm sạch dụng cụ thủy tinh.

Phương pháp hiệu quả để làm sạch và thường xuyên được sử dụng trong phân tích nguyên tố vi lượng như: đun sôi các loại bình ổn định cao về hóa học (thạch anh, fluoropolyme, thủy tinh) với axit nitric.

3.4 Thiết bị, dụng cụ

Thiết bị, dụng cụ đo phải được lắp đặt trong phòng, khác với phòng tiến hành chuẩn bị mẫu, khi có thể.

3.5 Phòng thử nghiệm

Tránh sử dụng hóa chất và các chất dùng cho phép phân tích khác hoặc dùng cho mục đích làm sạch thông thường, có chứa các lượng lớn của một hoặc nhiều nguyên tố vết cần được xác định ở trong phòng nơi tiến hành phân tích các nguyên tố vết.

Đảm bảo rằng không khí đi vào có hàm lượng bụi thấp và áp suất cao hơn so với bên ngoài phòng thử nghiệm, nếu có thể. Sử dụng bàn có dòng khí một chiều sạch bụi hoặc tủ hút, nếu cần.

Thường xuyên làm sạch phòng thử nghiệm để loại bỏ chất bẩn, bụi nhằm tránh nhiễm bẩn thiết bị và mẫu.

4 Yêu cầu về hiệu năng và các đặc tính

4.1 Yêu cầu chung

Các tiêu chí về hiệu năng cụ thể đối với chì (Pb), cadimi (Cd), thủy ngân (Hg) và thiếc (Sn) được quy định trong các tiêu chuẩn riêng.

4.2 Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) được tính từ sự biến thiên của:

a) tín hiệu phân tích từ dung dịch mẫu trắng, dung dịch này có thể không chứa chất phân tích hoặc chứa một lượng gần như bằng không, hoặc;

b) nền mẫu không chứa chất phân tích; trong trường hợp không thể tìm thấy nền mẫu thực phẩm nói trên thì sử dụng nền mẫu mô phỏng chứa các nguyên tố chủ yếu.

Sử dụng mẫu trắng trong suốt quá trình phân tích bao gồm quá trình phân hủy, pha loãng và xác định. LOD được tính bằng cách sử dụng hệ số $3 \times SD$ và LOQ được tính bằng cách sử dụng hệ số 6 hoặc 10 lần SD [5].

Sự biến thiên tín hiệu phân tích để xác định LOD/LOQ có thể được tính theo nhiều cách khác nhau.

c) Đối với giá trị trung bình của số lượng thích hợp mẫu trắng thì sử dụng độ lệch chuẩn (SD). Số lượng mẫu trắng ít nhất là 20 mẫu, thu được vào những ngày khác nhau và trên cơ sở hiệu chuẩn khác nhau. Lưu ý rằng các dung dịch trắng gồm nước hoặc axit loãng không đại diện cho nền thực phẩm nói chung, nhưng có thể đại diện cho thực phẩm có hàm lượng khoáng thấp, ví dụ rượu mạnh và đường. Các LOD sẽ thay đổi phụ thuộc vào khối lượng mẫu và thể tích pha loãng.

d) Bổ sung chất phân tích vào mẫu không chứa các chất phân tích ở nồng độ với LOD được dự kiến lên đến $10 \times LOD$. Trong trường hợp này, thực hiện bổ sung 10 lần ở nồng độ cách đều, cách khác, có

thể sử dụng bổ sung bốn lần trong phép xác định lặp lại ba lần [6]. LOD/LOQ có thể khác nhau giữa các nền mẫu, ví dụ sữa, thịt, cá, rau và quả v.v... phụ thuộc vào loại, lượng mẫu và độ nhạy của phương pháp xác định các thành phần nền mẫu. Thông thường, lựa chọn thực phẩm thay thế cho nền mẫu nhất định và xác định LOD/LOQ đối với thực phẩm thay thế. Độ lệch chuẩn của mẫu trắng (σ) thu được từ độ lệch chuẩn của giao điểm đường chuẩn với trục tung xem [7].

Trong trường hợp các phương pháp này không thích hợp, thì sử dụng các biến thiên khác để xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng, ví dụ độ lệch chuẩn của tín hiệu nhiều nền sắc đồ tại thời gian lưu của chất phân tích trong trường hợp phân tích đặc biệt.

4.3 Độ chệch và độ thu hồi của phương pháp

Trong phân tích nguyên tố vết, khi tổng hàm lượng chất phân tích được xác định sau khi phân hủy nền mẫu hữu cơ thì độ đúng của phương pháp được thiết lập bằng CMR. Độ đúng thường được biểu thị theo độ chệch. Kết quả từ mẫu chuẩn được chứng nhận thường phản ánh toàn bộ quá trình phân tích sau khi đồng hóa. Độ chệch đáng kể thường không được bù vì cho thấy phương pháp luận chưa phù hợp và phải được nhận biết và khắc phục về vấn đề đó. Có một số quy trình sẵn có để tính độ chệch [8], [9], [10].

Độ thu hồi là đặc tính hiệu năng thường được sử dụng trong các phương pháp bao gồm quá trình chiết hoặc bước cô đặc sơ bộ. Các phương pháp để xác định tổng hàm lượng các nguyên tố vết không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như hiệu quả chiết và vì vậy độ thu hồi không cung cấp nhiều thông tin có giá trị. Những ảnh hưởng gây ra do nhiễm hoặc thất thoát các nguyên tố trong suốt quá trình là ngẫu nhiên hoặc có hệ thống và có thể không được hiệu chỉnh bằng cách áp dụng hệ số. Trong các trường hợp này, độ thu hồi không liên quan và không áp dụng hiệu chỉnh.

Trong quá trình chiết hợp chất hóa học của các nguyên tố, độ thu hồi có thể được hiệu chỉnh trong trường hợp khi quá trình chiết các hợp chất đích là không hoàn toàn. Kết quả phân tích phải được hiệu chỉnh về độ thu hồi chỉ đối với phép phân tích đặc biệt và mức thu hồi phải được báo cáo (chi tiết hơn, xem [12]).

4.4 Độ không đảm bảo đo

Độ không đảm bảo đo bao gồm tất cả các yếu tố ảnh hưởng đến độ không đảm bảo của kết quả cuối cùng. Vì vậy, tất cả các bước của quy trình, như chuẩn bị mẫu, đồng hóa, phân hủy và xác định cần được đưa vào trong phép tính và ước tính độ không đảm bảo đo.

Mức tối đa của chất nhiễm bẩn trong thực phẩm nêu trong TCVN 4832:2015 [4], nên áp dụng mức tối đa để tính độ không đảm bảo đo chuẩn tối đa từ đó có các quyết định khách quan cho dù mức tối đa có bị vượt quá hay không. Trong trường hợp này, đại diện độ không đảm bảo đo tối đa liên quan đến sự phù hợp của phương pháp, được tính theo Công thức 1.

$$U_{\max} = \sqrt{\left(\frac{C}{b}\right)^2 + (\alpha \cdot C)^2} \quad (1)$$

Trong đó

$U_{\max}$ là độ không đảm bảo chuẩn tối đa, tính bằng microgam trên kilôgam ($\mu\text{g/kg}$);

C là nồng độ của các chất cần xác định, tính bằng microgam trên kilôgam ($\mu\text{g/kg}$);

α là hệ số phụ thuộc vào giá trị C . Các giá trị được sử dụng nêu trong Bảng 3;

b bằng 10 đối với nồng độ nhỏ hơn 100 $\mu\text{g/kg}$;

bằng 20 đối với nồng độ bằng hoặc lớn hơn 100 $\mu\text{g/kg}$.

Hệ số b được đưa vào trong phép tính, LOD phải nhỏ hơn một phần mười mức tối đa, tương ứng một phần năm đối với nồng độ nhỏ hơn 100 $\mu\text{g/kg}$.

Bảng 3 – Các giá trị được sử dụng đối với hằng số α trong Công thức (1) phụ thuộc vào nồng độ của chất cần xác định

Nồng độ $\mu\text{g/kg}$	α
≤ 50	0,20
51 đến 500	0,18
501 đến 1 000	0,15
1 001 đến 10 000	0,12
$> 10\,000$	0,10

Độ không đảm bảo đo mở rộng $U_{\max}$ được tính theo Công thức (2):

$$U_{\max} = 2 \times u_{\max} \quad (2)$$

Với mức tin cậy khoảng 95 %.

Phương pháp sử dụng cho phép kiểm soát chính thức phải cho kết quả độ không đảm bảo đo thấp hơn độ không đảm bảo đo được tính theo công thức trên. Lưu ý rằng $U_{\max}$ chỉ cho thấy độ không đảm bảo tối đa liên quan đến phép đo, có thể phù hợp với TCVN 4832:2015 [4]. Phải tiến hành đánh giá đúng độ không đảm bảo của phương pháp để kiểm tra xem có đáp ứng yêu cầu hay không.

4.5 Đảm bảo chất lượng phân tích (AQA)

4.5.1 Khái quát

Các phòng thử nghiệm phải chứng minh được là đang được kiểm soát và thực hành thành thạo. Các phòng thử nghiệm cần có hệ thống tài liệu dựa trên các yêu cầu của TCVN ISO/IEC 17025 (ISO/IEC 17025) [13] để đảm bảo chất lượng phân tích.

4.5.2 Kiểm soát chất lượng phân tích (AQC)

Đây là một phần tích hợp của AQA và nhằm đảm bảo các phòng thử nghiệm có các quy trình thích hợp để giám sát tính hợp lệ của các kết quả thử nghiệm. Vấn đề này bao gồm việc sử dụng thường xuyên mẫu chuẩn hoặc mẫu chuẩn được chứng nhận và việc tham gia thử nghiệm thành thạo (PT). Kiểm soát chất lượng phân tích cũng bao gồm đánh giá các kết quả thử nghiệm, quyết định có thể phân tích lại với cùng một phương pháp hoặc với phương pháp khác và những vấn đề cần thiết để đảm bảo kết quả đó.

4.5.3 Kiểm soát chất lượng nội bộ

Các phòng thử nghiệm kiểm soát thực phẩm cần chứng minh rằng họ có các quy trình kiểm soát chất lượng nội bộ ngay tại cơ sở. Các ví dụ được nêu trong TCVN ISO/IEC 17025 (ISO/IEC 17025) [13] và trong [7].

Kiểm soát chất lượng nội bộ bao gồm:

- a) Mẫu trắng, để kiểm soát sự nhiễm của các axit và các bình được sử dụng;
- b) Mẫu chuẩn, đại diện cho độ chính xác của phương pháp và quy trình.
- c) Các mẫu được phân tích trong hai phép thử lặp lại độc lập, dùng làm chỉ thị về sự nhiễm bẩn, mẫu đủ đồng nhất hoặc mẫu bị thất thoát trong quá trình phân tích.

Đây là yếu tố quan trọng của kiểm soát chất lượng nội bộ, để chạy tất cả các mẫu từ a) đến c) xuyên suốt quá trình phân tích hoàn chỉnh (ví dụ quá trình phân hủy, pha loãng v.v...).

Tìm hiểu kỹ hơn về kiểm soát chất lượng nội bộ, có thể xem Tài liệu tham khảo [8].

4.5.4 Sử dụng mẫu chuẩn được chứng nhận

Mẫu chuẩn được chứng nhận thường được phân tích song song với mẫu thử và cần được xử lý như nhau. Mục đích của phân tích mẫu chuẩn được chứng nhận chủ yếu là để ước tính độ chệch của phương pháp. Do đó, điều quan trọng là mẫu chuẩn được chứng nhận phải càng giống với mẫu thử nghiệm càng tốt, có liên quan đến nền mẫu và mức phân tích. Kết quả của phân tích mẫu chuẩn được chứng nhận cần được đánh giá trên các khía cạnh:

- a) hàm lượng nước của mẫu (các giá trị được chứng nhận thường liên quan đến mẫu khô);
- b) khoảng tin cậy (hoặc các thông số biến thiên tương tự) của mẫu chuẩn được chứng nhận, và;
- c) độ không đảm bảo đo của phương pháp đã sử dụng.

4.5.5 Sử dụng mẫu chuẩn

Khi sử dụng mẫu chuẩn, tốt nhất mẫu chuẩn nên truy xuất được với mẫu chuẩn được chứng nhận, khi có thể. Điều này có thể đạt được bằng cách phân tích mẫu chuẩn được chứng nhận, có nền mẫu và nồng độ chất phân tích tương tự, theo chuỗi liên tục, ví dụ chất chuẩn – mẫu chuẩn được chứng nhận – mẫu chuẩn – mẫu trắng – mẫu chuẩn – mẫu chuẩn được chứng nhận – chất chuẩn. Nếu có sự khác biệt đáng kể giữa hai bộ kết quả thì sử dụng quy trình thống kê thích hợp để kiểm tra. Tuy nhiên, lưu ý rằng chênh lệch chấp nhận được không chuyển từ mẫu chuẩn sang mẫu chuẩn được chứng nhận.

4.5.6 Thử nghiệm thành thạo

Bằng cách tham gia vào các thử nghiệm thành thạo (PT), phòng thử nghiệm được đánh giá độc lập về năng lực trong một lĩnh vực phân tích cụ thể. Điều quan trọng là các yếu tố (item) thử nghiệm thành thạo càng giống mẫu thử càng tốt, liên quan đến nền mẫu và mức của chất phân tích. Nhiều tổ chức công nhận yêu cầu phòng thử nghiệm tham gia thử nghiệm thành thạo để đạt được, duy trì và công nhận thử nghiệm thành thạo. Tuy nhiên, chương trình thử nghiệm thành thạo không sẵn có cho mọi chất phân tích hay nền mẫu.

5 Diễn giải và biểu thị kết quả

Tất cả các kết quả cuối cùng cần được báo cáo bao gồm độ không đảm bảo đo, nếu được yêu cầu.

Đối với mục đích kiểm soát chính thức, quy định cụ thể về việc giải thích và biểu thị các kết quả được nêu trong tiêu chuẩn cụ thể.

Đối với các phép phân tích khác, nên báo cáo độ không đảm bảo đo mở rộng với kết quả cuối cùng, trong trường hợp:

- a) vượt quá giới hạn nhất định;
- b) để so sánh kết quả cuối cùng với kết quả từ phòng thử nghiệm khác.

Kết quả cuối cùng dưới giới hạn định lượng phải được báo cáo là "< LOQ (mg/kg)" hoặc "nhỏ hơn LOQ (mg/kg)", khi LOQ là giá trị bằng số, ví dụ, < LOQ (0,010 mg/kg) hoặc < 0,010 mg/kg (LOQ).

Giá trị bằng số và các đơn vị biểu thị kết quả phải phù hợp với các quy định và các yêu cầu thích hợp về độ chụm [ví dụ nếu các giới hạn được thiết lập là tính bằng miligam trên kilôgam (mg/kg), thì các kết quả được biểu thị theo cùng một đơn vị và số lượng].

Đối với một số thực phẩm, thường yêu cầu biểu thị các kết quả nồng độ theo khối lượng của nguyên tố trên khối lượng mẫu khô. Trong trường hợp này phải cung cấp thông tin về hàm lượng nước của mẫu phân tích, cũng như kỹ thuật xác định độ ẩm được sử dụng.

6 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải tuân thủ theo TCVN ISO/IEC 17025 (ISO/IEC 17025) [13]. Thông thường, các thông tin sau đây được coi là tối thiểu cho một báo cáo, nhưng có thể yêu cầu thông tin bổ sung, tùy thuộc vào báo cáo tình huống.

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) mô tả phần mẫu thử được phân tích và phần mẫu được chuẩn bị ;
- c) phương pháp thử nghiệm đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) các kết quả thử nghiệm thu được và các đơn vị được quy định ;
- e) ngày kết thúc phân tích;
- f) yêu cầu về giới hạn lặp lại đã được đáp ứng;
- g) tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này này, hoặc được xem là tùy chọn, cùng với các chi tiết về mọi sự cố xảy ra khi thực hiện phương pháp có thể đã ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Regulation (EC) No 853/2004 of the European parliament and of the council of 29 April 2004 on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules (OJ L 191, 28.5.2004, p. 1).
- [2] Council Directive 96/23/EC of 29 April 1996 on measures to monitor certain substances and residues thereof in live animals and animal products (OJ L 125, 23.5.1996, p. 10-32).
- [3] Olivas, R. M., Quevauviller, P., Donard O.F.X.: Long term stability of organic selenium species in aqueous solutions. Fresenius J. Anal. Chem., 360, 512-519 (1998).
- [4] TCVN 4832:2015 *Tiêu chuẩn chung đối với các chất nhiễm bẩn và các độc tố trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi.*
- [5] Commission regulation (EC) No 333/2007 of 28 March 2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs, (OJ L 88 29.3.2007. p. 29-38).
- [6] DIN 32645:2008-11, *Chemical analysis – Decision limit, detection limit and determination limit under repeatability conditions – Terms, methods, evaluation*
- [7] International harmonised guidelines for internal quality control in analytical laboratories. Pure Applied Chemistry, 1995, 67, p. 649-666.
- [8] NMKL Procedure no. 5. Estimation and Expression of Measurement Uncertainty in Chemical Analysis. Nordic Committee on Food Analysis, NMKL. C/o National Veterinary Institute, PB 750 Sentrum, N-0106 , Oslo, Norway.
- [9] TCVN 9595-3:2013 (ISO/IEC Guide 98-3:2008), *Độ không đảm bảo đo – Phần 3: Hướng dẫn trình bày độ không đảm bảo đo (GUM:1995)*
- [10] EURACHEM/CITAC Guide CG 4. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Second edition 2000.
- [11] Harmonized Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement, Pure Appl. Chem., Vol. 71, pp. 337-348, 1999.
- [12] TCVN ISO/IEC 17025 (ISO/IEC 17025), *Yêu cầu chung về năng lực của phòng thử nghiệm và hiệu chuẩn.*