

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8464:2010

GS 2/3-24:1998

Xuất bản lần 1

**ĐƯỜNG – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHÌ
TRONG ĐƯỜNG VÀ XIRÔ BẰNG PHƯƠNG PHÁP
QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ DÙNG Lò GRAPHIT**

*The determination of lead in sugar and syrups
by graphite furnace atomic absorption spectroscopy method*

HÀ NỘI – 2010

Lời nói đầu

TCVN 8464:2010 và TCVN 8463:2010 thay thế TCVN 7275:2003;

TCVN 8464:2010 hoàn toàn tương đương với GS 2/3-24:1998;

TCVN 8464:2010 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F18 Đường, sản phẩm đường và mật ong biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Đường – Xác định hàm lượng chì trong đường và xirô bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit

The determination of lead in sugar and syrups

by graphite furnace atomic absorption spectroscopy method

1 Phạm vi áp dụng

Phương pháp này áp dụng để xác định hàm lượng chì có trong các loại đường và xirô.

2 Nguyên tắc ^{[2],[3],[4]}

Mẫu được tro hoá ướt bằng axit nitric-hydro peroxit và được phân tích bằng quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit (GFAAS). Magie nitrat được sử dụng làm chất bổ chính nền. Định lượng bằng hiệu chuẩn trực tiếp dựa theo dung dịch chuẩn kèm theo phép đo diện tích pic ở bước sóng 283,3 nm.

3 Thuốc thử

CẢNH BÁO VÀ CHÚ Ý VỀ AN TOÀN – Những người sử dụng phương pháp này cần tuân thủ quy định quốc gia về an toàn và đảm bảo sức khỏe trước khi tiếp xúc với các thuốc thử này, đặc biệt các axit có điểm sôi thấp.

3.1 Nước cất, đã loại ion, có độ dẫn điện 0,06 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (18 $\text{M}\Omega$).

3.2 Axit nitric, tinh khiết, nồng độ xấp xỉ 70 %, có điểm sôi thấp, đã được chưng cất, đã được chứng nhận, có hàm lượng chì không lớn hơn 0,04 $\mu\text{g}/\text{l}$.

3.3 Axit nitric, nồng độ xấp xỉ 5 %, có điểm sôi thấp.

Chuẩn bị bằng cách pha loãng axit 70 % bằng nước cất đã loại ion.

3.4 Axit clohydric, nồng độ xấp xỉ 5 %, có điểm sôi thấp.

Chuẩn bị bằng cách pha loãng axit clohydric, tinh khiết, nồng độ xấp xỉ 30 %, có điểm sôi thấp, bằng nước cất đã loại ion.

TCVN 8464:2010

3.5 Hydro peroxit, tinh khiết, nồng độ xấp xỉ 50 %.

3.6 Dung dịch gốc bổ chính nền

Cân 20 g magie nitrat ngậm sáu phân tử nước, loại tinh khiết và pha loãng đến 100 ml bằng nước cất đã loại ion. Trước khi sử dụng, chuẩn bị dung dịch làm việc bổ chính nền bằng cách pha loãng dung dịch gốc với tỉ lệ 1 : 10. Cứ 5 µl sẽ chứa 0,06 mg magie nitrat.

3.7 Dung dịch chuẩn

(a) Chuẩn bị tất cả các dung dịch chỉ trong axit nitric chưng cất dưới điểm sôi, nồng độ xấp xỉ 5 % và bảo quản trong lọ hoặc ống nghiệm bằng polyetylen đã được rửa sạch bằng axit. Dung dịch gốc chỉ 1 000 µg/ml hoặc 10 000 µg/ml có độ tinh khiết cao cần được sử dụng để chuẩn bị dung dịch chuẩn trung gian 10 µg/ml (chuẩn bị trong tuần sử dụng) bằng cách pha loãng với axit nitric 5 %. Chuẩn bị dung dịch chuẩn chỉ (1 µg/ml) hàng ngày bằng cách pha loãng dung dịch gốc 10 µg/ml với tỉ lệ 1 : 10.

(b) Dung dịch chuẩn hiệu chuẩn làm việc 100,0 ng/ml, 50,0 ng/ml, 25,0 ng/ml và 10,0 ng/ml phải được chuẩn bị từ dung dịch gốc chỉ 1 µg/ml. Nếu sử dụng thiết bị lấy mẫu tự động GFAAS để pha loãng dung dịch chuẩn, thì đảm bảo độ chính xác hiệu chuẩn bằng cách lấy các thể tích 3 µl hoặc lớn hơn.

3.8 Khí agon, độ tinh khiết cao (≥ 99,9 %).

4 Thiết bị, dụng cụ

4.1 Máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử

Máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit hiện đại, thích hợp được cài đặt ở bước sóng 283,3 nm và có trang bị bộ lấy mẫu tự động, các ống được phủ lớp nhiệt phân (ống pyrolytic), bộ lò graphit nhiệt phân cứng và cần có đủ phương tiện hiệu chỉnh nền. Việc hiệu chỉnh nền tốt nhất bằng hiệu ứng Zeeman hoặc hiệu chỉnh nền Smith-Hieftje tuy nhiên hiệu chỉnh nền bằng đơteri cũng có thể được chấp nhận.

CHÚ THÍCH: Phương pháp này được xây dựng dựa trên Model Perkin-Elmer Z5100 (khe 0,7 nm, lò nung HGA 600, bộ lấy mẫu tự động AS 80) với hiệu chỉnh nền Zeeman.

Nếu thiết bị này không có chức năng hiệu chuẩn tốt, dùng máy tính hoặc máy vi tính riêng để hiệu chuẩn theo phương pháp bình phương nhỏ nhất tuyến tính, phi tuyến tính hoặc bậc hai. Sử dụng đèn catốt rỗng hoặc đèn phóng điện không điện cực làm nguồn, dùng khí agon làm nguồn khí sạch và không khí có chất lượng tốt (đốt bằng oxy để tránh tạo thành cặn trong quá trình hoá than) làm khí thay thế.

Cài đặt thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất với thực hành GFAAS tốt, chú ý đến các yếu tố như điện áp ổn định, làm nhiệt độ nước mát, các đặc tính kỹ thuật của graphit và nhiệt độ lò nung.

4.2 Dụng cụ thủy tinh và dụng cụ bằng chất dẻo

Sử dụng các dụng cụ được làm sạch bằng axit (dụng cụ được rửa trong hỗn hợp nitric nồng độ xấp xỉ 5 % và axit clohydric, nồng độ xấp xỉ 5 %, được tráng sạch trong nước cất đã loại ion và tráng kỹ bằng nước cất đã loại ion), cốc lấy mẫu tự động teflon để tránh bị nhiễm bẩn. Sử dụng micropipet có đầu tip dùng một lần không chứa chì để pha loãng. Đảm bảo độ chính xác và độ chụm của micropipet và đầu tip bằng cách lấy và cân từ 5 đến 10 phần nước lặp lại trên cân vi phân tích. Sử dụng các dụng cụ thủy tinh hoặc chất dẻo được làm sạch bằng axit để chuẩn bị các chất chuẩn và pha loãng mẫu đến thể tích cuối cùng.

Để phân huỷ, dùng các ống polyetylen tỉ trọng cao, ống polypropylen, ống teflon hoặc ống thạch anh được rửa sạch bằng axit. Bảo quản các mẫu pha loãng cuối cùng trong các ống bằng chất dẻo có nắp đậy kín.

5 Cách tiến hành

5.1 Phân huỷ mẫu

Thực hiện các thao tác trong tủ hút và đeo kính an toàn. Thu lấy các mẫu nhỏ đại diện để phân tích. Đối với các mẫu lỏng như xi rô đường, thì thực hiện siêu âm và/hoặc trộn bằng vortex trước khi cân. Đối với các chất rắn như sacaroza tinh thể thì hoà tan thành dung dịch đường bằng cách sử dụng các khối lượng mẫu bằng nhau (ít nhất 5 g) và nước cất đã loại ion.

Các mẫu phải được trộn đều cho đến khi hòa tan hết. Cân chính xác khoảng 1,5 g mẫu dạng rắn hoặc 3,0 g dung dịch đường vào ống phân huỷ, ghi lại kết quả chính xác đến miligam.

Tiến hành chạy một mẫu trắng được chuẩn bị bởi 1,5 g nước cất đã loại ion đối với từng mẻ mẫu. Thêm 0,75 ml axit nitric, nồng độ 70 %. Gia nhiệt các ống bằng chất dẻo trong nồi cách thủy, các ống thạch anh trong nồi cách thủy hoặc khối ổn nhiệt, làm nóng chậm đến khoảng từ 90 °C đến 95 °C để tránh bị bắn tung toé.

Theo dõi nhiệt độ của mẫu. Gia nhiệt cho đến khi toàn bộ khí màu nâu biến mất và không còn màu gỉ sắt (từ 20 min đến 30 min). Làm nguội. Thêm 0,5 ml hydro peroxit 50 % nhỏ từng giọt, đun nóng ở 90 °C đến 95 °C trong 5 min. Để nguội. Thêm lượng 0,5 ml hydro peroxit 50 % thứ hai nhỏ từng giọt, đun nóng ở 90 °C đến 100 °C trong 5 min đến 10 min cho đến khi dung dịch trong. Để nguội và pha loãng đến thể tích cuối cùng 10 ml.

5.2 Khởi động máy GFAAS và hiệu chuẩn

Bật máy đo phổ và thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất để điều chỉnh dòng điện của đèn, khe và bước sóng (283,3 nm). Chèn bộ lò vào ống graphit, định vị ống vào đầu của bộ phận nguyên tử hoá và cài đặt chương trình theo yêu cầu đối với lò nung như sau:

TCVN 8464:2010

- (1) sấy ở 200 °C bằng cách tăng đến nhiệt độ này trong 20 s và giữ trong 30 s, tốc độ dòng khí agon 300 ml/min;
- (2) đốt mẫu ở 750 °C bằng cách tăng đến nhiệt độ này trong 40 s và giữ trong 40 s, tốc độ dòng không khí 300 ml/min;
- (3) làm nguội và làm sạch không khí từ lò nung trong 60 s bằng dòng khí agon 300 ml/min, ở nhiệt độ 20 °C.
- (4) nguyên tử hoá ở nhiệt độ 1 800 °C bằng cách tăng đến nhiệt độ này ngay lập tức, giữ trong 10 s và ngắt dòng khí agon;
- (5) làm sạch ở 2 600 °C bằng cách tăng đến nhiệt độ này trong 1 s và giữ trong 7 s;
- (6) làm nguội lò nung (nếu cần) ở 20 °C bằng cách giảm trong 1 s và giữ ở nhiệt độ này trong 5 s với tốc độ dòng khí agon 300 ml/min.

Dùng bộ lấy mẫu tự động để bơm 20 µl mẫu trắng, dung dịch chuẩn, dung dịch mẫu và 5 µl dung dịch làm việc bổ chính nền. Bơm từng dung dịch tương ứng lặp lại ba lần và lấy kết quả trung bình diện tích pic. Sau khi đảm bảo rằng lò nung đã sạch bằng cách cho rửa với dung dịch mẫu trắng axit nitric 5 %, kiểm tra độ nhạy của thiết bị bằng cách cho chạy dung dịch chuẩn hiệu chuẩn 25 ng/ml. Nếu độ hấp thụ tích phân nhỏ hơn 0,14 abs-sec đối với ống nung chuẩn 28 mm x 6 mm ở cuối giai đoạn nung, thì hiệu chỉnh nguyên nhân gây ra độ nhạy chưa đủ trước khi tiến hành các bước tiếp theo.

CHÚ THÍCH: Các lò nung gia nhiệt ngang thường nhỏ hơn và cho độ hấp thụ tích phân điển hình từ 0,05 abs-sec đến 0,07 abs-sec.

Nếu độ hấp thụ tích phân lớn hơn 0,25 abs-sec, có khả năng xảy ra sự nhiễm bẩn và cần tìm ra nguyên nhân. Tính khối lượng đặc trưng (m_0) là khối lượng của chì, tính bằng picogram (pg) cần thiết để tạo ra độ hấp thụ tích phân 0,0044 abs-sec như sau:

$$m_0 = \frac{(0,0044 \text{ abs-sec}) \times (25 \text{ pg}/\mu\text{l}) \times (20 \mu\text{l})}{\text{độ hấp thụ (abs-sec) đo được ở nồng độ 25 pg}/\mu\text{l}}$$

Ghi lại và theo dõi độ hấp thụ tích phân và m_0 để tham khảo và kiểm tra việc đảm bảo chất lượng.

5.3 Hiệu chuẩn và xác định chì

Bơm từng chất chuẩn đã hiệu chuẩn lặp lại ba lần bắt đầu với nồng độ nhỏ nhất. Độ tuyến tính của thiết bị chuẩn mở rộng đến 25 ng/ml với các lần bơm 20 µl. Nếu khả năng hiệu chuẩn phi tuyến tính, ví dụ dạng số hữu tỉ, bậc hai v.v... không thực hiện được hoặc không phù hợp, thì giới hạn đường chuẩn làm việc không lớn hơn 25 ng/ml. Sử dụng các thuật toán hiệu chuẩn sẵn có trong phần mềm của thiết bị.

Định kỳ hiệu chuẩn lại (≤ 15 mẫu) bằng cách chạy chuẩn hiệu chuẩn 25 ng/ml hoặc 50 ng/ml xen giữa các mẫu. Nếu việc kiểm tra lại khác với hiệu chuẩn trên 10 %, thì hiệu chuẩn lại thiết bị. Giới hạn phát hiện (DL) và giới hạn định lượng (QL) của thiết bị bằng picogram có thể dựa vào 7 lần đến 10 lần lặp lại chuẩn bị mẫu trắng và được tính như sau:

$$DL = \frac{3 \times (\text{độ lệch chuẩn mẫu trắng abs-sec}) \times (10 \text{ pg}/\mu\text{l}) \times (20 \mu\text{l})}{\text{độ hấp thụ (abs-sec) của mẫu chuẩn ở nồng độ } 10 \text{ ng/ml}}$$

$$QL = \frac{10 \times (\text{độ lệch chuẩn mẫu trắng abs-sec}) \times (10 \text{ pg}/\mu\text{l}) \times (20 \mu\text{l})}{\text{độ hấp thụ (abs-sec) của mẫu chuẩn ở nồng độ } 10 \text{ ng/ml}}$$

Trong quá trình xây dựng phương pháp, các giới hạn phát hiện thường từ 10 pg đến 14 pg tương ứng với từ 0,5 ng/ml đến 0,7 ng/ml đối với các lần bơm 20 μl . Điều này tương ứng với giới hạn phát hiện của phương pháp là từ 3,3 ng/g đến 4,7 ng/g đường.

5.4 Đảm bảo chất lượng

Để đảm bảo độ chính xác của phương pháp phân tích, cần phân tích nước đã axit hóa NIST SRM 1643c hoặc các vật liệu tương tự trước khi phân tích các mẫu chưa biết (sử dụng phương pháp phân tích mẫu xác định được mô tả dưới đây). Hàm lượng của SRM 1643c đã được xác nhận là $35,3 \pm 0,9$ ng/ml. Nếu nồng độ được xác định không nằm trong 10 % giá trị đối chứng trung bình (31,8 ng/ml đến 38,8 ng/ml) thì nguyên nhân của sự chưa chính xác này phải được đánh giá và không phân tích mẫu chưa biết cho đến khi đạt được độ chính xác có thể chấp nhận.

Ngoài ra, chuẩn bị mẫu đối chứng từ đường không bị nhiễm bẩn hoặc đường sacaroza loại thuốc thử (hoặc một chất thích hợp khác có hàm lượng chỉ nhỏ hơn 5 ng/ml) và trộn với một thể tích nước tương tự. Bổ sung chỉ vào dung dịch này để có hàm lượng chỉ 100 ng/g. Phân hủy và phân tích từng mẻ mẫu. Độ thu hồi phải là $100 \% \pm 20 \%$ và độ chụm đối với các dung dịch phân hủy lặp lại hoàn toàn phải nhỏ hơn 5 % RSD. Định kỳ kiểm tra dịch phân hủy mẫu bằng phương pháp thêm chuẩn để đảm bảo không có sự gây nhiễu hóa học hoặc không bị nhiễm.

Bơm mỗi mẫu lặp lại ba lần và ghi lại độ hấp thụ tích phân. Nếu tín hiệu của thiết bị vượt quá giới hạn của đường chuẩn thì pha loãng với axit nitric 5 % để đưa độ nhạy của mẫu vào dải làm việc và ghi lại hệ số pha loãng (DF). Các mẫu có nồng độ dung dịch cuối cùng lớn hơn 25 ng/ml cần được pha loãng theo tỉ lệ 1 : 10 để thuận tiện cho phân tích trong dải tuyến tính của hệ thống thiết bị không được trang bị thuật toán hiệu chuẩn phi tuyến tính. Tất cả các phép phân tích mẫu phải được hiệu chỉnh theo mẫu trắng đã chuẩn bị trước đó. Điều này có thể thực hiện tự động bằng phần mềm sau khi nhận dạng và chạy mẫu trắng đại diện đã chuẩn bị trước. Sử dụng thuật toán hiệu chuẩn được cung cấp trong phần mềm của thiết bị để tính nồng độ chỉ đã hiệu chỉnh giá trị mẫu trắng (ng/ml) dựa trên các phép đo độ hấp thụ tích phân.

TCVN 8464:2010

6 Biểu thị kết quả

6.1 Tính toán

Hàm lượng chì có trong mẫu đường hoặc xirô ban đầu có thể được tính như sau:

$$\text{Pb (ng/g)} = \frac{(\text{Pb đã hiệu chỉnh giá trị mẫu trắng ng/ml}) \times (\text{DF}) \times (\text{thể tích mẫu (10ml)})}{(\text{Khối lượng mẫu } (\approx 1,5 \text{ g}))}$$

6.2 Độ chụm^[2]

(a) Đối với các loại đường và xirô có chứa 50 ng Pb/g thì chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thu được ở các điều kiện lặp lại không được lớn hơn 22 ng/g.

Đối với cùng loại đường và xirô này thì chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thu được ở các điều kiện tái lập không được lớn hơn 38 ng/g.

(b) Đối với các loại đường và xirô chứa 100 ng Pb/g thì chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thu được ở các điều kiện lặp lại không lớn hơn 27 ng/g.

Đối với cùng loại đường và xirô thì chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thu được ở các điều kiện tái lập không được lớn hơn 54 ng/g.

(c) Đối với đường và xirô chứa từ 200 ng Pb/g đến 500 ng Pb/g thì chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thu được ở các điều kiện lặp lại không lớn hơn 57 ng/g.

Đối với cùng loại đường và xirô này thì chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thu được ở các điều kiện tái lập không lớn hơn 156 ng/g.

Giới hạn phát hiện:

Khi giới hạn phát hiện của thiết bị là 10 pg thì giới hạn phát hiện tương ứng của phương pháp là 3,3 ng/g đường.

^[2] Nếu dung dịch mẫu đã đồng nhất thì đây là khối lượng đường ban đầu được phân hủy (không phải là khối lượng của dung dịch).

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Proc. 21 st Sesion ICUMSA, 1984, 67
 - [2] Miller-Ihli, NJ, (1994); J AOAC Int. 77 (5), 1288-1292
 - [3] Miller-Ihli, NJ, (1995); J Agric food chem, 43 (4), 923-927.
 - [4] Food chemical Codex, 4th edition, (1996), 763-766
-