

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7933:2009

ISO/TS 6733:2006

Xuất bản lần 1

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHÌ –
PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ
DÙNG LÒ GRAPHIT**

*Milk and milk products – Determination of lead content –
Graphite furnace atomic absorption spectrometric method*

HÀ NỘI - 2009

Lời nói đầu

TCVN 7933:2009 cùng với TCVN 7932:2009 thay thế TCVN 5779:1994;

TCVN 7933:2009 hoàn toàn tương đương với ISO/TS 6733:2006;

TCVN 7933:2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F 12 *Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Sữa và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng chì – Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit

*Milk and milk products – Determination of lead content –
Graphite furnace atomic absorption spectrometric method*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định tổng hàm lượng chì trong sữa và sản phẩm sữa.

Giới hạn phát hiện của phương pháp được xác định là ba lần độ lệch chuẩn của phép xác định mẫu trắng, là 0,001 mg/kg đối với sản phẩm sữa dạng lỏng và 0,01 mg/kg đối với các loại sữa dạng rắn nếu sử dụng phương pháp tro hoá khô. Đối với việc khoáng hoá ướt chịu áp lực, thì các con số này là như nhau đối với các phần mẫu thử chứa 0,2 g chất khô. Việc khoáng hoá bằng lò vi sóng thì cho phép dùng các phần mẫu thử lớn hơn và do đó các giới hạn phát hiện thấp hơn.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 7151 (ISO 648), Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet một mức.

TCVN 7153 (ISO 1042), Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức.

TCVN 4851 (ISO 3696), Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.

TCVN 6270:1997 (ISO 6732:1985), Sữa và các sản phẩm sữa. Xác định hàm lượng sắt – Phương pháp quang phổ (Phương pháp chuẩn).

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

3.1

Hàm lượng chì (lead content)

Phần khối lượng của chất xác định được bằng quy trình quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Hàm lượng chì được biểu thị bằng miligam trên kilogam mẫu thử.

4 Nguyên tắc

Phần mẫu thử được khoáng hoá bằng cách tro hoá khô theo chương trình với sự có mặt của axit sulfuric để hỗ trợ quá trình tro hoá. Cách khác, mẫu thử được khoáng hoá ướt chịu áp lực với axit nitric trong bình Teflon hoặc bình thạch anh, hoặc khoáng hoá ướt bằng lò vi sóng. Tro được hoà tan trong axit nitric loãng hoặc dịch khoáng hoá ướt được làm bay hơi đến khô và cặn được hoà tan trong axit nitric loãng. Đo độ hấp thụ nguyên tử của dung dịch tạo thành ở bước sóng 283,3 nm bằng máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit với hiệu chỉnh nền Zeeman hoặc đèn D2 hồ quang. Việc định lượng được tiến hành bằng phương pháp sử dụng đường chuẩn hoặc phương pháp thêm chuẩn.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử và các dung môi thuộc loại tinh khiết phân tích, trừ khi có các qui định khác.

5.1 **Nước**, đã cất hai lần hoặc có độ tinh khiết tương đương, phù hợp với loại 2 của TCVN 4851 (ISO 3696).

5.2 **Axit nitric đậm đặc** (HNO_3), $\rho_{20}(\text{HNO}_3) = 1,40$ g/ml, dùng cho mục đích làm sạch.

5.3 **Axit nitric đậm đặc** (HNO_3), $\rho_{20}(\text{HNO}_3) = 1,40$ g/ml, Merk "Suprapur"²⁾ hoặc tương đương.

5.4 **Axit sulfuric đậm đặc** (H_2SO_4), $\rho_{20}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84$ g/ml, Merk "Suprapur"²⁾ hoặc tương đương.

5.5 **Dung dịch axit sulfuric, 20 %** (phần khối lượng/thể tích).

Pha loãng 130 ml axit sulfuric đậm đặc (5.4) bằng nước đến 1000 ml.

5.6 Chất bổ chính nền

5.6.1 Hoà tan 2,0 g amoni dihydro phosphat ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) (Baker "Ultrex")²⁾ và 0,17 g magie nitrat [$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$] (Merk "Suprapur") trong nước. Pha loãng đến 100 ml.

²⁾ Dung dịch Baker "Ultrex", Merck "Suprapur", Titrisol và Perkin-Elmer là ví dụ về những sản phẩm có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, ISO không ấn định phải sử dụng các sản phẩm đó.

Các dung dịch thích hợp có bán sẵn trên thị trường [ví dụ: có sẵn từ hãng Perkin-Elmer số.B019-0634²⁾ (dung dịch Mg 1 %) và số N930-3445 (dung dịch NH₄H₂PO₄ 10 %)].

5.6.2 Trộn 200 µl dung dịch chứa 1 % Pd (theo nitrat, ví dụ: Perkin-Elmer số.B019-0635)²⁾ và 20 µl dung dịch chứa 1 % Mg (theo nitrat, ví dụ: Perkin-Elmer số.B019-0634)²⁾ với 1,67 ml nước và 2 giọt axit nitric (5.3).

5.7 Dung dịch chỉ chuẩn đậm đặc, $c(\text{Pb}) = 100 \text{ mg/l}$

Hoà tan 159,9 mg chì nitrat [Pb(NO₃)₂] bằng nước trong bình định mức một vạch 1000 ml (6.4). Thêm 10 ml axit nitric đậm đặc (5.3). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

Bảo quản dung dịch này trong chai thủy tinh bosilicat có nắp đậy bằng thủy tinh mài.

CHÚ THÍCH Cách khác, có thể sử dụng dung dịch có bán sẵn trên thị trường, ví dụ như Merck Titrisol 9969²⁾.

5.8 Dung dịch chỉ chuẩn, $c(\text{Pb}) = 1 \text{ mg/l}$

Dùng pipet lấy 1,0 ml dung dịch chỉ chuẩn đậm đặc (5.7) cho vào bình định mức 100 ml (6.4). Thêm 1 ml axit nitric đậm đặc (5.3). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

Bảo quản dung dịch này trong bình polyetylen (6.6) có nắp vặn.

5.9 Dung dịch chỉ chuẩn làm việc

Dùng pipet lấy tương ứng 0 ml, 0,50 ml, 1,0 ml, 2,0 ml và 3,0 ml dung dịch chỉ chuẩn (5.8) cho vào bình định mức một vạch 100 ml (6.4). Thêm 1 ml axit nitric đậm đặc (5.3). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Chuẩn bị các dung dịch chỉ chuẩn làm việc này cho mỗi tuần.

CHÚ THÍCH Các dung dịch chỉ chuẩn làm việc này có nồng độ chì tương ứng là 0,0 µg/l, 5,0 µg/l, 10,0 µg/l, 20,0 µg/l và 30,0 µg/l.

Bảo quản các dung dịch này không quá một tuần trong các bình polyetylen (6.6) có nắp vặn.

5.10 Khí nitơ hoặc agon siêu tinh khiết.

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

²⁾ Dung dịch Baker "Utrex", Merck "Suprapur", Titrisol và Perkin-Elmer là ví dụ về những sản phẩm có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, ISO không ấn định phải sử dụng các dung dịch đó.

TCVN 7933:2009

6.1 Chén nung và dụng cụ thủy tinh, được làm sạch như sau:

Rửa và tráng bằng nước vòi sau đó tráng lại bằng nước cất. Ngâm ít nhất 12 h trong dung dịch axit nitric đậm đặc 10 % (phần khối lượng). Tráng ba lần bằng nước cất hai lần trước khi sử dụng. Để khô và bảo quản chén nung hoặc dụng cụ thủy tinh đã rửa sạch trong môi trường không bụi.

6.2 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

6.3 Chén nung bằng thạch anh, đáy phẳng, có nắp đậy, có dung tích khoảng từ 25 ml đến 50 ml.

6.4 Bình định mức một vạch, dung tích 10 ml, 100 ml và 1000 ml, có nắp đậy bằng thủy tinh mài.

6.5 Pipet một vạch, dung tích 1 ml, 2 ml và 10 ml.

6.6 Bình cầu polyetylen, dung tích 100 ml, có nắp vặn.

6.7 Pipet định lượng, có các dung tích có thể điều chỉnh được từ 50 μ l đến 250 μ l, từ 250 μ l đến 1000 μ l và từ 1000 μ l đến 5000 μ l, có nắp đậy bằng chất dẻo.

6.8 Lò nung, có cài đặt chương trình đến nhiệt độ khoảng 800 °C, có lớp lót bằng vật liệu chứa hàm lượng chì thấp (ví dụ như thạch anh).

Làm nóng định kỳ lò nung (ví dụ như hai tuần một lần) đến nhiệt độ từ 700 °C đến 800 °C.

6.9 Dụng cụ khoáng hoá ướt chịu áp lực, như theo phương thức cổ truyền hoặc nguồn nhiệt vi sóng, có bình khoáng hoá bằng vật liệu không bị nhiễm bẩn.

6.10 Tủ sấy, có thể duy trì ở 150 °C \pm 5 °C.

6.11 Bếp điện, có bộ ổn nhiệt có thể điều chỉnh được.

6.12 Máy đo phổ hấp thụ nguyên tử, có bộ phận nguyên tử hoá bằng nhiệt điện (lò graphit), hệ thống điều chỉnh nền detơri- đèn D2 hồ quang hoặc Zeeman, bộ phận lấy mẫu tự động gồm có các cốc đựng mẫu, máy in hoặc máy ghi, được gắn với đèn phóng điện không điện cực hoặc đèn catot rỗng đối với chì, các ống graphit, tấm L'vov, nếu thích hợp, v.v...

7 Lấy mẫu

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện và không bị hư hại hoặc thay đổi các đặc tính trong suốt quá trình vận chuyển và bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử từ các loại sản phẩm khác nhau theo 8.1 của TCVN 6270:1997 (ISO 6732:1985), tránh nhiễm bẩn chì.

9 Cách tiến hành

9.1 Tro hoá khô

9.1.1 Phấn mẫu thử

Cân khoảng 1 g mẫu thử, đối với các sản phẩm dạng khô, hoặc từ 5 g đến 10 g mẫu thử đối với các sản phẩm dạng ướt, chính xác đến 1 mg, cho vào chén nung thạch anh (6.3). Cho khoảng từ 2 ml đến 3 ml nước vào mẫu thử của sản phẩm dạng khô để thu được dung dịch hồ nhão. Cho 2 ml dung dịch axit sulfuric (5.5) vào cả hai phần mẫu thử. Dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ. Tráng đũa bằng một ít nước.

CHÚ THÍCH Việc thêm axit sulfuric là để tránh thất thoát chì. Tuy nhiên kinh nghiệm cho thấy rằng việc thêm như vậy là không cần thiết khi việc tro hoá được thực hiện có chương trình nhiệt độ và nhiệt độ tối đa không vượt quá 500 °C đến 550 °C.

9.1.2 Tro hoá

Đặt chén nung thạch anh lên bếp điện (6.11) và cho lượng chứa trong chén bay hơi đến khô. Nếu phản ứng quá mạnh, thì giảm bớt nhiệt. Tiếp tục gia nhiệt cho đến khi không còn khói trắng của sulfua trioxit.

Chuyển chén nung sang lò nung (6.8). Tăng nhiệt độ lò, bắt đầu từ nhiệt độ phòng với tốc độ khoảng 50 °C trên giờ đến khi đạt được 300 °C sau đó duy trì nhiệt độ này trong 2 h. Lại tăng nhiệt độ của lò nung khoảng 50 °C trên giờ đến 550 °C. Giữ chén nung cùng với mẫu ở nhiệt độ này trong khoảng 6 h.

Lấy chén nung ra khỏi lò và để nguội. Làm ướt tro bằng 1 ml nước và 1 ml axit nitric (5.3). Dùng bếp điện (6.11) cho bay hơi lượng chứa trong chén đến khô.

Đặt lại chén nung vào lò nung (6.8), trong lúc chờ, được làm nguội đến khoảng từ 550 °C đến 350 °C. Tăng lại nhiệt độ của lò đến 550 °C. Giữ 30 min ở nhiệt độ này. Lặp lại quy trình này cho đến khi thu được tro không còn chứa cacbon (trắng).

CẢNH BÁO Đặt bếp điện và lò nung trong tủ hút, vì hơi của axit sulfuric và nitơ oxit giải phóng trong quá trình phân huỷ. Luôn đậy nắp chén nung khi chuyển chén từ nơi này sang nơi khác và được bảo quản trong quá trình vận chuyển.

TCVN 7933:2009

9.1.3 Dung dịch thử

Cho 1,0 ml nước và 0,5 ml axit nitric (5.3) vào lượng chứa trong chén nung thạch anh. Làm nóng chén nung cẩn thận trên bếp điện (6.11) để hoà tan tro. Chuyển hết lượng chứa trong chén này sang bình định mức một vạch 10 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch. Trộn kỹ và tiến hành đo.

9.1.4 Phép thử trắng

Thực hiện tất cả các bước trong 9.1.1 đến 9.1.3 nhưng bỏ qua phần mẫu thử.

9.2 Khoáng hoá trong bình kín (phân huỷ kín)

9.2.1 Phần mẫu thử

Cân khoảng 1 g mẫu thử, chính xác đến 0,1 mg đối với các sản phẩm dạng lỏng, hoặc 0,2 g mẫu thử đối với các sản phẩm dạng rắn, cho vào bình khoáng hoá Teflon (6.9). Nếu có thể, chỉnh lượng mẫu thử dạng lỏng sao cho không có quá 0,2 g chất hữu cơ.

Lượng này chỉ áp dụng đối với bình khoáng hoá có dung tích 23 ml. Điều chỉnh các lượng này đối với các bình có dung tích khác.

9.2.2 Khoáng hoá

Thêm 3 ml axit nitric (5.3). Đậy nắp bình khoáng hoá Teflon. Chuyển sang bình bằng thép và vặn chặt nắp. Đặt tất cả vào tủ sấy (6.10) ở nhiệt độ phòng. Tăng nhiệt độ của tủ sấy lên đến 150 °C và duy trì ở nhiệt độ này ít nhất 3 h.

9.2.3 Dung dịch thử

Sau khi làm nguội đến nhiệt độ phòng, mở nắp bình khoáng hoá Teflon. Cho bay hơi lượng chứa trong bình đến gần khô trên bếp điện (6.11). Thêm 250 µl axit nitric (5.3) và dùng nước để chuyển lượng chứa trong bình này sang bình định mức một vạch 10 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch.

Trộn kỹ và tiến hành đo.

9.2.4 Phép thử trắng

Thực hiện tất cả các bước trong 9.2.1 đến 9.2.3 nhưng bỏ qua phần mẫu thử.

Một số phòng thử nghiệm dùng khoáng hoá bằng vi sóng với axit nitric thay cho việc khoáng hoá bằng nhiệt. Kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng với điều kiện là phòng thử nghiệm chứng minh được rằng việc khoáng hoá bằng vi sóng tạo ra các dung dịch đo có thể so sánh được với các dung dịch được tạo ra bằng việc khoáng hoá áp lực khi được phân tích bằng sắc phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit.

9.3 Tiến hành đo

9.3.1 Cài đặt thiết bị

CHÚ THÍCH Trong các phòng phân tích có sử dụng thiết bị của nhiều hãng và các loại máy đo phổ hấp thụ nguyên tử khác nhau. Điều kiện của một thiết bị thích hợp là được gắn với một nguồn sáng, hệ thống quang học và hệ thống điều chỉnh nền thích hợp (ví dụ như hiệu ứng Zeeman hoặc đèn deteri-đèn D2 hồ quang). Có vài loại ống graphit có bán sẵn, các kết quả tốt nhất có thể thu được khi sử dụng các ống cacbon pyrolytic, được ma pyrolytic hoặc được mạ zirconium và được gắn với các tấm L'vov.

Chỉnh tất cả các thông số của thiết bị theo chỉ dẫn của nhà sản xuất về phương pháp đo chì và tối ưu hoá để thu được hiệu chỉnh nền và hình dạng pic có thể chấp nhận được.

9.3.2 Hiệu chuẩn và đo các dung dịch mẫu

9.3.2.1 Yêu cầu chung

Việc hiệu chuẩn có thể thực hiện được bằng đường chuẩn hoặc phương pháp thêm chuẩn. Nếu chọn cách sử dụng đường chuẩn thì phải được khẳng định bằng phương pháp thêm chuẩn mà các đường cong chuẩn phải giống nhau đối với các dung dịch chuẩn và các dung dịch thử.

Các thể tích bơm phụ thuộc vào loại thiết bị và có thể thay đổi trong khoảng từ 5 μl đến 40 μl . Đối với các dung dịch chuẩn và các dung dịch thử thì cần phải thêm một lượng giống nhau của chất bổ chính nền (5.6.1 hoặc 5.6.2) vào ống graphit.

9.3.2.2 Quy trình sử dụng đường chuẩn

Đo năm dung dịch chì chuẩn làm việc (5.9) lặp lại ba lần. Sau đó cũng đo lặp lại ba lần dung dịch thử (9.1.3 hoặc 9.2.3) và phép thử trắng (9.1.4 hoặc 9.2.4). Các số đọc riêng lẻ được hiệu chỉnh nền (các diện tích pic hoặc chiều cao pic) đối với các chất chuẩn giống nhau hoặc dung dịch thử không được sai khác quá 10 %.

Cứ sau mỗi lần thử năm dung dịch, đo dung dịch chì chuẩn làm việc 10 $\mu\text{g/l}$ (5.9) để kiểm tra hiệu quả hoạt động của thiết bị.

9.3.2.3 Quy trình thêm chuẩn

Đo tất cả các phép thử trắng (9.1.4 hoặc 9.2.4) và các dung dịch thử (9.1.3 hoặc 9.2.3) như sau: Bơm x μl dung dịch thử với x μl chất bổ chính nền (5.6.1 hoặc 5.6.2) và đo độ hấp thụ nguyên tử được hiệu chỉnh về độ hấp thụ nền. Lặp lại quy trình này.

Sau đó thực hiện tương tự, nhưng bơm thêm x μl dung dịch chì chuẩn làm việc (5.9) và đo độ hấp thụ nguyên tử đã được chỉnh về độ hấp thụ nền. Lặp lại quy trình này.

Tiếp tục thực hiện tương tự, bơm thêm 2 x μl cùng dung dịch chì chuẩn làm việc. Thực hiện phép đo này hai lần. Dãy thông số bơm được nêu trong Bảng 1.

Chênh lệch các kết quả thử lặp lại của mỗi cặp không được vượt quá 10 %. Để kiểm tra độ tuyến tính, thì việc tăng tín hiệu do lần thêm thứ hai phải từ 90 % đến 110 % của tín hiệu do lần thêm thứ nhất.

CHÚ THÍCH Tùy thuộc vào loại thiết bị mà x sẽ dao động từ 5 đến 20.

Bảng 1 – Dây thông số bơm

Nguồn	Số lần bơm	Mẫu bơm
Mẫu trắng	1	Mẫu trắng
	2	Mẫu trắng
	3	Mẫu trắng + thêm lần 1
	4	Mẫu trắng + thêm lần 1
	5	Mẫu trắng + thêm lần 2
	6	Mẫu trắng + thêm lần 2
Dung dịch thử 1	1	Mẫu 1
	2	Mẫu 1
	3	Mẫu 1 + thêm lần 1
	4	Mẫu 1 + thêm lần 1
	5	Mẫu 1 + thêm lần 2
	6	Mẫu 1 + thêm lần 2
Dung dịch thử 2	1	Mẫu 2
	2	Mẫu 2
	3	Mẫu 2 + thêm lần 1
	4	Mẫu 2 + thêm lần 1
	5	Mẫu 2 + thêm lần 2
	6	Mẫu 2 + thêm lần 2
Bắt đầu lại với mẫu trắng		v.v...

VÍ DỤ Việc cài đặt như sau đối với máy đo phổ hấp thụ nguyên tử Perkin-Elmer AAS 4100 ZL³⁾ được trang bị đèn catot rỗng đã được sử dụng:

Ống graphit	được phủ pyrolytic, có gắn với các tấm cacbon pyrolytic (Perkin-Elmer ³⁾ số B050-4033, đối với AAS 4100 ZL)
Cường độ dòng điện của đèn	10 mA
Bước sóng	283,3 nm
Độ rộng khe hở	0,7 nm (thấp)
Khí heath	Nitơ
Tốc độ hút của pipet	100 %
Thể tích bơm	10 µl
Nhiệt độ bơm	20 °C
Chất bổ chính nền	10 µl [0,05 % Pb/ 0,03 % Mg(NO ₃) ₂] (5.6.2)
Đo tín hiệu	Diện tích pic
Hiệu chuẩn	Phương pháp thêm chuẩn

³⁾ Perkin-Elmer AAS 4100 ZL là ví dụ về sản phẩm có bán sẵn. Thông tin này đưa ra sự thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này. ISO hoặc IDF không ấn định phải sử dụng sản phẩm đó.

Bảng 2 – Chương trình nhiệt độ

Bước	Nhiệt độ lò °C	Thời gian s		Dòng khí bên trong ml/min
		Bước nhảy	Giữ	
1	120	10	30	250
2	130	25	40	250
3	1200	20	30	250
4*	1850	0	5	0
5	2500	1	5	250

* Tín hiệu này chỉ biểu lộ trong bước nguyên tử hoá (4).

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Tính tự động

Các thiết bị hiện đại được cung cấp sẵn chương trình tính phần mềm có khả năng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của các phép đo lặp lại. Các chương trình này cũng có thể thực hiện tính đối với đường chuẩn về các chuẩn ngoại, cũng như đối với phương pháp thêm chuẩn. Ngoài ra, khối lượng phần mẫu thử và các hệ số pha loãng có thể được đưa vào máy để thiết bị tính trực tiếp kết quả theo mg/kg mẫu thử.

Nếu thiết bị không được trang bị chương trình như vậy thì tiến hành theo 10.2 hoặc 10.3.

10.2 Tính bằng cách sử dụng đường chuẩn

10.2.1 Tính các giá trị trung bình của các tín hiệu thu được đối với các dung dịch chuẩn, dung dịch mẫu trắng và các dung dịch thử (xem 9.3.2.1).

Vẽ đồ thị các giá trị hấp độ thu của các dung dịch chỉ chuẩn làm việc (5.9) dựa theo các nồng độ tương ứng và dựng đường tuyến tính phù hợp nhất hoặc cách khác, tính đường hồi quy bằng phương pháp bình phương nhỏ nhất. Đọc từ đồ thị, hoặc tính nồng độ của dung dịch thử và dung dịch mẫu trắng bằng microgram trên lít.

10.2.2 Tính hàm lượng chỉ của mẫu thử, w , bằng miligam trên kilogam theo công thức sau đây:

$$w = \frac{(w_s - w_0)V}{1000 m}$$

TCVN 7933:2009

trong đó:

w_s là hàm lượng chì của dung dịch thử (9.1.3 hoặc 9.2.3), tính bằng microgam trên lít;

w_0 là hàm lượng chì của dung dịch mẫu trắng (9.1.4 hoặc 9.2.4), tính bằng microgam trên lít;

V là thể tích của dung dịch thử (9.1.3 hoặc 9.2.3), tính bằng mililit;

m là khối lượng phần mẫu thử (9.1.1 hoặc 9.2.1), tính bằng gam.

10.3 Tính đối với phương pháp thêm chuẩn

10.3.1 Tính hàm lượng chì của mẫu thử, w_s , và của mẫu trắng, w_0 , cả hai giá trị được biểu thị bằng microgam trên lít đối với phương pháp thêm chuẩn, theo công thức sau đây:

$$w_s (w_0) = A_0 \left/ \left[\frac{(A_2 - A_1) + (A_1 - A_0)}{2} \right] \times c_s \right.$$

trong đó:

w_s là hàm lượng chì của dung dịch thử (9.1.3 hoặc 9.2.3), tính bằng microgam trên lít;

w_0 là hàm lượng chì của dung dịch mẫu trắng (9.1.4 hoặc 9.2.4), tính bằng microgam trên lít;

A_0 là trị số tín hiệu (diện tích hoặc chiều cao) của dung dịch thử hoặc dung dịch mẫu trắng (9.3.2.2);

A_1 là trị số tín hiệu của dung dịch thử hoặc dung dịch mẫu trắng đối với một lần thêm (9.3.2.2);

A_2 là trị số tín hiệu của dung dịch thử hoặc dung dịch mẫu trắng đối với hai lần thêm (9.3.2.2);

c_s là nồng độ trong dung dịch chì chuẩn được thêm (5.9), tính bằng microgam trên lít.

10.3.2 Tính hàm lượng chì trong mẫu thử, w , biểu thị bằng miligam trên kilogam, dùng công thức trong 10.2.2 nhưng thay hàm lượng chì của mẫu trắng, w_0 , và hàm lượng chì của dung dịch thử, w_s , bằng giá trị thu được trong 10.3.1.

10.4 Biểu thị kết quả

Biểu thị các kết quả thu được trong 10.2.2 hoặc trong 10.3.2 đến hai chữ số thập phân.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các giá trị về độ lặp lại và độ tái lập thu được từ các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm được tiến hành theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2). Các chi tiết của phép thử

liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A. Các giá trị nhận được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và chất nền khác với các dải nồng độ và chất nền đã nêu.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử độc lập, riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên cùng một loại vật liệu thử, trong cùng phòng thử nghiệm, với cùng một người thao tác trong cùng một khoảng thời gian ngắn như nhau, không quá 5 % trường hợp lớn hơn các giá trị được nêu trong Bảng A.1.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên cùng một loại vật liệu thử, ở các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người thao tác khác nhau và trên các thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn các giá trị nêu trong Bảng A.1.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử.
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết,
- c) phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này,
- d) mọi thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc những điều được coi là tự chọn, và bất kỳ chi tiết nào có ảnh hưởng tới kết quả,
- e) kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại, thì ghi kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(tham khảo)

Thử liên phòng thử nghiệm**A.1 Báo cáo của nghiên cứu**

Một phép thử cộng tác quốc tế với sự tham gia của chín phòng thử nghiệm đã được thực hiện trên tám mẫu sữa và sản phẩm sữa khác nhau. Tuy nhiên, các báo cáo của năm phòng thử nghiệm tham gia cho thấy có khó khăn khi sử dụng phương pháp hoặc quy trình đã không được thực hiện chính xác.

Các kết quả của bốn phòng thử nghiệm còn lại, tất cả sử dụng mẫu khoáng hoá trong lò nung áp lực hoặc lò vi sóng, các kết quả đã được phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) để thu được dữ liệu về độ chụm như trong Bảng A.1. Các phép thử Grubbs và Cochran cho thấy rằng không có các ngoại lệ.

Bảng A.1 – Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

	Loại sản phẩm	Trung bình µg/kg	CVr %	r µg/kg	CVR % [*]	R µg/kg	CVR % [*]
A (1/13)	Sữa cô đặc đông khô 1	38,7	16,8	18,40	20,9	22,89	26,1
B (2/7)	Bột sữa nguyên chất	23,6	58,9	39,34	80,9	54,05	28,1
C (3/10)	Phomat chế biến	9,5	72,7	19,55	80,1	21,53	32,2
D (4/11)	Bột whey	16,3	69,9	32,24	127	58,58	29,7
E (5/15)	Caseinat	25,3	49,0	35,08	75,5	54,06	27,8
F (6/12)	Sữa cô đặc bằng phương pháp đông khô 2	19,4	103	56,55	77,3	42,44	29,0
G (8/14)	Phomat đông khô	22,0	36,4	22,66	49,5	30,82	28,4
H (9/16)	Bột sữa gầy	19,6	37,8	20,97	29,6	16,42	28,9

^{*} Hệ số biến thiên tái lập dự báo của công thức Horwitz

A.2 Kết luận và khuyến nghị

Các kết quả nghiên cứu cho thấy rằng các dữ liệu về độ chụm không thoả mãn các kết quả mong muốn. Chỉ có độ tái lập của cặp mẫu A có hàm lượng chì cao nhất trong tất cả các mẫu là giống với giá trị dự báo của công thức Horwitz, trong khi mẫu H có thể được coi là "chấp nhận được". Đối với các cặp mẫu còn lại thì độ tái lập cao hơn từ hai đến ba lần so với dự đoán.

Các kết quả nghiên cứu đã không thoả mãn cho tất cả, số lượng các phòng thử nghiệm cho số liệu mà có thể đưa vào đánh giá là quá thấp, do đó các số liệu về độ chụm không được chấp nhận. Có thể việc giải thích về độ chụm không thoả mãn này liên quan đến các mức hàm lượng chì thấp trong các mẫu. Chỉ có hai mẫu đã bổ sung chì trong khi các mẫu khác vẫn có mức nhiễm chì "tự nhiên". Từ quan điểm về chất lượng sản phẩm, thì các hàm lượng chì có thể rất thấp. Mặt khác, đó là một thách thức đối với các phòng phân tích.

Đối với sữa dạng lỏng, giới hạn mà EU thiết lập là 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Đối với bột sữa và các sản phẩm sữa dạng khô khác thì điều này ứng với giới hạn từ 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ đến 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Giới hạn này đối với phomat là 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Các mức hàm lượng chì của các mẫu thử được sử dụng trong nghiên cứu này là quá thấp. Độ chụm và độ chính xác có thể được chấp nhận đối với mẫu A có hàm lượng chì khoảng 35 $\mu\text{g}/\text{kg}$, có thể ước tính rằng đối với các mẫu thử có hàm lượng chì từ 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ đến 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ thì phương pháp này đã có thể cho các kết quả thoả đáng hơn.

Cần lưu ý rằng việc xác định hàm lượng chì không phải là phương pháp xác định cuối cùng, nhưng việc ước tính nồng độ của một hoá chất đã xác định thì cách tiếp cận chuẩn trong tương lai có thể thích hợp nhất đối với vấn đề này.

Theo kinh nghiệm, phương pháp này có thể cho độ chụm và các kết quả chính xác với hàm lượng chì lớn hơn 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tính theo hàm lượng chất khô.

Phụ lục B

(tham khảo)

Khả năng áp dụng tro hoá khô làm quy trình khoáng hoá

Chỉ có một phòng thử nghiệm tham gia trong phép thử liên phòng này sử dụng việc tro hoá khô. Rất tiếc là phòng thử nghiệm này không tuân thủ chính xác quy trình đã định, việc tro hoá được thực hiện ở $700\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ thay cho việc tro hoá ở $550\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dịch phân huỷ thu được đã được chiết bằng APDC tạo thành MIBK, điều này cũng không nằm trong quy trình đã định. Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu của phòng thử nghiệm này không sai khác theo thống kê so với các kết quả của bốn phòng sử dụng kỹ thuật phân huỷ kín và hoàn toàn trùng với kết quả của ba phòng thử nghiệm sử dụng ICP-MS và kỹ thuật GFAAS lấy mẫu rắn, xem Bảng B.1.

Bảng B.1 – So sánh các kết quả trung bình thu được sử dụng phương pháp này (với phân huỷ kín) với kết quả của các phòng thử nghiệm dùng kỹ thuật GFAAS lấy mẫu rắn và ICP-MS (B) và tro hoá khô ở $700\text{ }^{\circ}\text{C}$ (C)

Mẫu	Loại sản phẩm	A trung bình $\mu\text{g}/\text{kg}$	B trung bình $\mu\text{g}/\text{kg}$	C trung bình $\mu\text{g}/\text{kg}$
A(1/13)	Sữa cô đặc bằng phương pháp đông khô 1	38,7	33,6	29,8
B (2/7)	Bột sữa nguyên chất	23,6	10,1	6,0
C (3/10)	Phomat chế biến	9,5	5,8	7,2
D (4/11)	Bột whey	16,3	6,1	0
E (5/15)	Caseinat	25,3	19,3	21,2
F (6/12)	Sữa cô đặc bằng phương pháp đông khô 2	19,4	13,5	11,6
G (8/14)	Phomat đông khô	22,0	15,2	15,7
H (9/16)	Bột sữa gầy	19,6	8,8	6,3

Một phòng thử nghiệm báo cáo là không thể thu được các kết quả thử nghiệm tốt khi sử dụng chất phân huỷ từ việc tro hoá khô vì độ hấp thụ nền rất cao, với thiết bị này thì không thể bù được. Có thể thực tế là axit sulfuric được dùng để hỗ trợ việc tro hoá có thể đã gây nên các tín hiệu nền tăng cao. Kinh

nghiệm cho thấy rằng các loại lò graphit cũ dùng các ống graphit tương đối rộng thì không gặp phải khó khăn khi bù nền với kiểu phân huỷ này^[6], nhưng các thiết bị mới có các ống graphit nhỏ hơn có thể gặp phải vấn đề này.

Dựa trên cơ sở này, việc sử dụng axit sulfuric là hết sức cần thiết với mục đích chính là để ngăn ngừa thất thoát chì do bay hơi. Kinh nghiệm sau đây và thông tin thêm từ các phòng thử nghiệm cho thấy việc thêm axit sulfuric là không cần thiết để ngăn ngừa các thất thoát chì nếu việc tro hoá được thực hiện với chương trình nhiệt độ tối đa từ 500 °C đến 550 °C^[5].

Việc thất thoát mạnh chì không xuất hiện khi mẫu không chứa chất vô cơ, để lại một lượng rất nhỏ trong phần tro còn lại. Ngoài ra, khi chỉ một lượng nhỏ dung dịch chuẩn được tro hoá thì hệ số thu hồi rất thấp. Điều này ngụ ý rằng các chất nền vô cơ kèm theo chì và như thế ngăn ngừa được sự bay hơi của nó. Tuy nhiên, phần lớn sữa và các sản phẩm sữa sinh ra một lượng tro lớn từ lượng chất hữu cơ.

Việc tro hoá khô tương đối đơn giản và không kỹ thuật nào cho phép việc khoáng hoá đồng thời nhiều mẫu. Tùy thuộc vào kích cỡ lò nung mà lượng mẫu có thể dao động từ 10 mẫu đến 50 mẫu. Nên các chuyên gia khuyến cáo vẫn giữ phương pháp phân huỷ này trong tiêu chuẩn. Do đó, có thể tùy ý lựa chọn, nhưng lưu ý (xem 9.1.1) việc bỏ qua bước thêm axit sulfuric.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.
- [2] TCVN 6910-1 (ISO 5725-1), Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.
- [3] TCVN 6910-2 (ISO 5725-2), Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.
- [4] Ellen, G. and VAN LOON, J.W. Determination of cadmium and lead contents in foods by graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman background correction: Test with certified reference materials.
- [5] Koops, J., KLOMP, H. and WESTERBEEK, D. The cadmium and lead contents of Dutch milk. Comparison of the results obtained by Zeeman-corrected, stabilized-temperature platform furnace atomic absorption spectroscopy and differential-pulse anodic-stripping voltammetry. A reassessment. *Neth. Milk Dairy J.*, **42**, 1988, pp. 99-110.
- [6] ELLEN, G. and TIBBESMA, G. *Neth. Milk and dairy J.* **30**, 1976, pp. 174-185.
-