

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 6269:2008

ISO 8070:2007

Xuất bản lần 2

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
CANXI, NATRI, KALI VÀ MAGIE –
PHƯƠNG PHÁP ĐO PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ**

*Milk and milk products – Determination of calcium, sodium, potassium and
magnesium contents – Atomic absorption spectrometric method*

HÀ NỘI - 2008

Lời nói đầu

TCVN 6269:2008 thay thế TCVN 6269:1997;

TCVN 6269:2008 hoàn toàn tương đương với ISO/IDF 8070:2007;

TCVN 6269:2008 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* 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 canxi, natri, kali và magie –

Phương pháp đo phổ hấp thụ nguyên tử

Milk and milk products – Determination of calcium, sodium, potassium and magnesium contents – Atomic absorption spectrometric method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định canxi, natri, kali và magie trong sữa và sản phẩm sữa bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa.

Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho sữa và whey, buttermilk, sữa chua, cream, sữa bột, bơ, phomat, casein và caseinat.

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

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.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Hàm lượng canxi, natri, kali, magie (calcium, sodium, potassium, magnesium contents)

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

CHÚ THÍCH Các hàm lượng tương ứng được biểu thị theo miligam trên gam.

4 Nguyên tắc

Chất hữu cơ được phân huỷ bằng tro hoá khô hoặc phân huỷ ướt sử dụng axit nitric trong hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng mở hoặc trong hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng áp lực hoặc trong bình phân huỷ bằng polytetrafluoroetylen (PTFE) áp lực hoặc trong dụng cụ thích hợp bất kỳ dùng trong phân huỷ ướt. Tro chứa canxi, natri, kali và magie được hoà tan trong dung dịch axit nitric đối với trường hợp tro hoá khô, hoặc dịch phân huỷ được pha loãng trong trường hợp phân huỷ ướt. Dung dịch thử nghiệm và dung dịch hiệu chuẩn được nguyên tử hoá trong ngọn lửa không khí-axetylen của máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử và đo độ hấp thụ của các dung dịch này ở các bước sóng thích hợp.

5 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải thuộc loại phân tích, trừ khi có quy định khác và nước được sử dụng phải phù hợp với loại 2 của TCVN 4851 (ISO 3696).

ĐỂ PHÒNG VỆ AN TOÀN – Khi sử dụng các loại axit, người thực hiện cần phải mang kính bảo vệ và găng tay. Thao tác với axit phải được thực hiện trong tủ hút khói thích hợp.

5.1 Dung dịch axit nitric (HNO₃), đậm đặc, 65 % phần khối lượng.

5.2 Dung dịch axit nitric (HNO₃), 25 % phần thể tích.

Pha loãng 25 ml axit nitric (5.1) bằng nước đến 100 ml và trộn.

5.3 Dung dịch lantan trichlorua, $c(\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}) = 27 \text{ g/l}$.

Hoà tan 27 g lantan trichlorua ngậm bảy phân tử nước ($\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) trong một lượng nước. Pha loãng đến 1 lít và trộn.

5.4 Dung dịch gốc ion canxi

Loại có bán sẵn hoặc tương đương với $c(\text{Ca}^{2+}) = 1 \text{ g/l}$.

5.5 Dung dịch gốc ion natri

Loại có bán sẵn hoặc tương đương với $c(\text{Na}^+) = 1 \text{ g/l}$.

5.6 Dung dịch gốc ion kali

Loại có bán sẵn hoặc tương đương với $c(K^+) = 1 \text{ g/l}$.

5.7 Dung dịch gốc ion magie

Loại có bán sẵn hoặc tương đương với $c(Mg^{2+}) = 1 \text{ g/l}$.

5.8 Dung dịch chuẩn làm việc, chứa 100 mg/l ion canxi, 20 mg/l ion natri, 20 mg/l ion kali và 10 mg/l ion magie.

Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch gốc ion canxi (5.4), 2 ml dung dịch gốc ion natri (5.5), 2 ml dung dịch gốc ion kali (5.6) và 1 ml dung dịch gốc ion magie (5.7) cho vào bình định mức một vạch 100 ml (6.3) và trộn. Thêm 5 ml dung dịch axit nitric (5.2). Pha loãng bằng nước đến vạch 100 ml và trộn lại.

Bảo quản dung dịch chuẩn làm việc này trong chai PE-HD (6.7) sao để tránh được nhiễm bẩn.

5.9 Dầu nhẹ (ete dầu mỏ), có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C.

Chưng cất dầu nhẹ trong thiết bị chưng cất không nhiễm bẩn, nếu cần.

5.10 Hydro peroxit (H_2O_2), 30 % phần thể tích.

6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Khái quát

Giữ các dụng cụ thủy tinh sạch trong dung dịch axit nitric khoảng 10 % phần khối lượng. Rửa sạch tất cả các dụng cụ bằng thủy tinh và chất dẻo thật kỹ bằng axit nitric 10 % và ngâm trong dung dịch này ít nhất 6 h. Trước khi sử dụng, các dụng cụ thủy tinh và chất dẻo cần được tráng ba lần bằng nước cất hai lần và để khô.

Bảo quản tất cả các dụng cụ thủy tinh và chất dẻo sạch trong môi trường không có bụi để đảm bảo rằng chúng không bị nhiễm bẩn khi được sử dụng.

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

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

6.3 Bình định mức một vạch, dung tích danh định 20 ml, 50 ml, 100 ml, 250 ml và 1 000 ml, phù hợp với yêu cầu của TCVN 7153 (ISO 1042).

TCVN 6269:2008

- 6.4 Pipet một vạch**, dung tích danh định 1 ml, 2 ml, 5 ml và 10 ml, phù hợp với yêu cầu của TCVN 7151 (ISO 648).
- 6.5 Micro pipet**, có thể điều chỉnh được trong khoảng từ 1 ml đến 5 ml, có tip pipet bằng chất dẻo.
- 6.6 Ống đong chia độ**, dung tích 10 ml.
- 6.7 Chai bằng polyetylen mật độ cao (PE-HD)**, có khả năng bảo quản các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu.
- 6.8 Chén nung bằng silica**, dung tích từ 25 ml đến 50 ml.
- 6.9 Lò nung có cài đặt chương trình**, có khả năng duy trì nhiệt độ ở $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ và có cài đặt chương trình với tốc độ $50\text{ }^{\circ}\text{C/h}$.
- 6.10 Hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng mở**, chuyển năng lượng vi sóng 200 W, được gắn với các lọ thích hợp dung tích 50 ml, có hệ thống làm nguội tương thích.
- 6.11 Hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng áp lực**, có bộ điều khiển có thể chọn đầu ra năng lượng vi sóng từ 0 W đến 1 000 W, được trang bị các bộ phận kiểm soát nhiệt độ và áp suất và thiết bị làm nguội không khí, được gắn với các lọ thích hợp dung tích 50 ml, có bán sẵn hoặc loại tương đương.
- 6.12 Bình phân huỷ**, bằng thép không gỉ, được lắp các lọ PTFE bên trong dung tích 23 ml có nắp vặn (lọ PTFE phân huỷ ướt có áp lực), có bán sẵn hoặc loại tương đương.
- 6.13 Tủ sấy**, có thể duy trì nhiệt độ $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ (để phân huỷ trong bình cao áp)
- 6.14 Máy đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa**, có đầu đốt không khí-axetylen, thích hợp để đo ở các bước sóng khác nhau đối với các quy trình xác định các ion: 422,7 nm đối với canxi, 589,6 nm đối với natri, 766,5 nm đối với kali và 285,2 đối với magie; được trang bị các đèn catot rỗng của loại nguyên tố riêng lẻ hoặc loại kết hợp.
- 6.15 Nồi cách thuỷ**, có thể duy trì nhiệt độ ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ và ở $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 6.16 Máy ly tâm**, có thể tạo gia tốc ly tâm ở 2500 g, có các ống nghiệm dung tích ít nhất là 150 ml.
- 6.17 Dụng cụ nghiên thích hợp.**
- 6.18 Sàng**, không bị nhiễm bẩn, có cỡ lỗ danh định là 0,5 mm.

7 Lấy mẫu

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện và không bị thay đổi hoặc suy giảm chất lượng trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

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

Bảo quản mẫu thử nghiệm sao cho không làm suy giảm chất lượng cũng như không làm thay đổi thành phần của mẫu.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Tránh làm nhiễm bẩn mẫu thử.

8.1 Sữa và whey

Đặt mẫu thử vào nồi cách thuỷ (6.15) ở 20 °C và trộn cẩn thận. Trong trường hợp, nếu chất béo phân tán không đều, thì làm ấm mẫu từ từ trên nồi cách thuỷ (6.15) ở 40 °C. Trộn nhẹ bằng cách đảo chiều hộp đựng. Khi mẫu đã trộn kỹ thì làm nguội nhanh trên nồi cách thuỷ (6.15) ở 20 °C.

8.2 Buttermilk

Loại bỏ hết các hạt bơ, nếu cần. Ngay trước khi cân (9.1.1.1 hoặc 9.1.2.1), đặt mẫu thử vào nồi cách thuỷ (6.15) ở 20 °C và trộn cẩn thận.

8.3 Sữa chua

Đặt mẫu thử vào nồi cách thuỷ (6.15) ở 20 °C và trộn cẩn thận. Nếu thấy có tách huyết thanh thì khuấy kỹ mẫu trước khi cân (9.1.1.1 hoặc 9.1.2.1).

8.4 Cream

Đặt mẫu thử vào nồi cách thuỷ (6.15) ở 20 °C. Trộn hoặc khuấy kỹ nhưng không quá mạnh làm xáo trộn chất béo. Nếu cream quá dày hoặc nếu chất béo không phân tán đều thì làm ấm mẫu thử từ từ trên nồi cách thuỷ (6.15) ở 40 °C cho dễ trộn. Làm nguội nhanh mẫu thử trên nồi cách thuỷ (6.15) ở 20 °C.

CHÚ THÍCH Nếu trộn mẫu thử không đều hoặc nếu mẫu thử cho thấy chất béo bị xáo trộn hoặc thấy có bất cứ dấu hiệu bất thường khác thì sẽ thu được các kết quả không chính xác.

8.5 Sữa bột

Chuyển mẫu thử sang hộp đựng có dung tích lớn gấp hai lần thể tích mẫu thử, có nắp đậy kín khí. Đậy ngay nắp hộp đựng. Trộn kỹ sữa bột bằng cách lắc và đảo chiều hộp đựng.

8.6 Bơ

Do sự phân bố không đồng nhất các ion trong bơ mà chúng được xác định trong huyết thanh.

TCVN 6269:2008

CHÚ THÍCH Lượng ion có trong phần chất béo thu được từ bơ theo cách đã mô tả, là không đáng kể so với lượng có trong huyết thanh và có thể bỏ qua.

Cân 100 g mẫu thử, chính xác đến 100 mg, cho vào ống ly tâm khô (6.16) đã biết trước khối lượng. Đặt ống vào nồi cách thủy (6.15) ở 45 °C. Ngay sau khi bơ tan, cho ly tâm ống với gia tốc hướng tâm 2500 g.

Dùng pipet lấy càng nhiều càng tốt lớp chất béo ra khỏi ống. Thêm 10 ml dầu nhẹ (5.9) để pha loãng chất béo còn lại trong ống và dùng pipet lấy tiếp hỗn hợp ra. Lặp lại hai lần việc pha loãng và loại bỏ hỗn hợp của dầu nhẹ.

Loại bỏ dầu nhẹ còn lại bằng cách làm ấm ống trên nồi cách thủy (6.15) ở 65 °C. Làm nguội trên nồi cách thủy (6.15) được đặt trước ở 20 °C. Dùng khăn giấy sạch lau khô phía ngoài ống ly tâm. Cân ống và lượng chứa bên trong chính xác đến 100 mg. Trộn kỹ lượng chứa bên trong ngay trước khi cân mẫu thử (9.1.1.1 hoặc 9.1.2.1).

CHÚ THÍCH Bơ có thể được phân huỷ trực tiếp nếu sử dụng tro hoá khô hoặc phân huỷ ướt bằng lò vi sóng áp lực, bơ đã được làm ấm đến 30 °C, được đồng hoá bằng cách khuấy kỹ phần mẫu thử được lấy trực tiếp.

8.7 Phomat

Loại bỏ phần cùi hoặc lớp mốc trên bề mặt ra khỏi mẫu thử sao cho phần mẫu thử đúng là đại diện cho phomat thường dùng. Nghiền mẫu bằng dụng cụ thích hợp (6.17). Trộn nhanh toàn bộ mẫu thử và tốt nhất là nghiền lại lần nữa.

Nếu phần mẫu thử (ví dụ như phomat mềm) không thể nghiền, thì trộn kỹ toàn bộ mẫu thử. Chuyển mẫu đã xử lý sơ bộ hoặc một phần đại diện của mẫu thử vào ngay hộp đựng có nắp đậy kín khí.

Tốt nhất là tiến hành phân tích ngay sau khi nghiền. Phomat nghiền cho thấy đã bị mốc không mong muốn hoặc bắt đầu phân huỷ thì không phải kiểm tra tiếp.

8.8 Casein và caseinat

8.8.1 Nếu phần lớn mẫu thử đã đủ mịn để lọt qua rây (6.18) thì có thể được sử dụng ngay mà không phải nghiền tiếp. Chuyển khoảng 50 g mẫu thử đã rây sang hộp đựng có dung tích lớn gấp đôi thể tích của mẫu thử và có nắp đậy kín khí.

Đậy ngay hộp đựng. Trộn kỹ phần mẫu thử bằng cách lắc và đảo chiều hộp đựng nhiều lần.

8.8.2 Nếu mẫu thử không lọt hết qua rây (6.18), thì nghiền khoảng 50 g mẫu thử cho đến khi toàn bộ lọt hết qua rây. Chuyển toàn bộ mẫu thử đã rây vào hộp đựng. Tiếp tục quy trình như mô tả trong 8.8.1.

9 Cách tiến hành

9.1 Phần mẫu thử

CHÚ THÍCH Nếu cần kiểm tra về độ lặp lại thì tiến hành hai phép xác định độc lập dưới các điều kiện lặp lại.

9.1.1 Phần mẫu thử để tro hoá khô

9.1.1.1 Sữa, sữa chua, cream, whey, bơ và buttermilk

Cân 10 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.1 đến 8.4, 8.6), chính xác đến 1 mg, cho vào chén nung bằng silica (6.8).

9.1.1.2 Sữa bột, phomat, casein và caseinat

Cân 1 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.5, 8.7, 8.8), chính xác đến 1 mg, cho vào chén nung bằng silica (6.8).

9.1.2 Phần mẫu thử để phân huỷ ướt

CẢNH BÁO – Khi sử dụng hệ thống áp lực (bình phân huỷ PTFE áp lực hoặc hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng áp lực), cần đặc biệt chú ý để tránh mọi nguy cơ gây nổ. Cụ thể, cỡ mẫu thử cần đặc biệt quan tâm. Trong bình phân huỷ ướt 25 ml thì không có mẫu thử nào được phân huỷ với lượng chất khô lớn hơn 200 mg (lượng mẫu tổng thể không được lớn hơn 1 g). Lò để tiến hành phân huỷ phải được đặt trong tủ hút.

9.1.2.1 Sữa, sữa chua, cream, whey, bơ và buttermilk

Cân từ 0,5 g đến 1 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.1 đến 8.4, 8.6), chính xác đến 1 mg, cho vào bình vi sóng (6.10 hoặc 6.11) hoặc bình PTFE (6.12).

9.1.2.2 Sữa bột, phomat, casein và caseinat

Cân từ 0,2 g đến 0,5 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.5, 8.7, 8.8), chính xác đến 1 mg, cho vào bình vi sóng (6.10 hoặc 6.11) hoặc bình PTFE (6.12).

9.2 Phân huỷ chất hữu cơ

9.2.1 Tro hoá khô

Đặt chén nung silica (9.1.1.1 hoặc 9.1.1.2) vào lò nung có cài đặt chương trình (6.9) ở nhiệt độ phòng. Bật chương trình gia nhiệt của lò nung gồm các bước sau đây: để sấy và tro hoá sơ bộ thì tăng nhiệt độ đến 550 °C với tốc độ tăng 50 °C/h. Duy trì nhiệt độ của lò ở 550 °C trong 6 h.

Nếu lượng tro thu được sau khi để nguội vẫn có màu xám thì hoà tan tro trong 1 ml dung dịch axit nitric (5.2). Tiếp tục quá trình tro hoá khô bằng cách lặp lại quá trình bắt đầu từ 9.2.1.

9.2.2 Phân huỷ ướt**9.2.2.1 Phân huỷ bằng vi sóng**

Dùng hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng mở (9.2.2.1.1) hoặc hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng áp lực (9.2.2.1.2).

9.2.2.1.1 Hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng mở

Sử dụng chương trình phân huỷ với hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng mở (6.10) theo Bảng 1.

CHÚ THÍCH Các thông số như chủng loại và thể tích thuốc thử được bổ sung, năng lượng vi sóng và thời gian phân huỷ có thể thay đổi tùy thuộc vào loại và cỡ của mẫu cần phân tích.

Bảng 1 – Hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng mở - Chương trình phân huỷ

Bước	Bổ sung thuốc thử	Thể tích ml	Năng lượng W	Thời gian min
1	H ₂ O (chưng cất)	2	–	–
2	HNO ₃ (5.1)	7	30	5
3	–	–	80	15
4	H ₂ O ₂ (5.10)	1	60	5

9.2.2.1.2 Hệ thống phân huỷ ướt bằng vi sóng áp lực

Cho 3 ml dung dịch axit nitric (5.2) vào bình vi sóng (6.11) rồi đóng kín. Đặt bình vào lò vi sóng (6.11)

Sử dụng chương trình phân huỷ với hệ thống áp lực theo Bảng 2.

CHÚ THÍCH Các thông số như chủng loại và thể tích thuốc thử được bổ sung, năng lượng vi sóng và thời gian phân huỷ có thể thay đổi tùy thuộc vào loại và cỡ của mẫu cần phân tích.

Bảng 2 – Hệ thống phân huỷ bằng vi sóng - Chương trình phân huỷ

Bước	Năng lượng vào W	Thời gian min	Năng lượng cuối W	Hệ thống làm mát
1	500	10	800	Thấp
2	800	20	1 000	Thấp
3	0	20	0	Cao

9.2.2.2 Bình phân huỷ

Cho 3 ml dung dịch axit nitric (5.2) vào bình phân huỷ (6.12) rồi đóng kín bình. Đặt bình vào lò (6.13) để ở nhiệt độ phòng. Tăng nhiệt độ lò đến 150 °C và giữ bình ở nhiệt độ này ít nhất trong 3 h.

9.3 Xác định

9.3.1 Chuẩn bị dung dịch thử

9.3.1.1 Tro hoá khô

Hoà tan tro thu được (9.2.1) vào 1 ml dung dịch axit nitric (5.2). Chuyển hết sang bình định mức một vạch 250 ml (6.3) bằng cách dùng nước để tráng. Pha loãng bằng nước đến vạch 250 ml. Trộn kỹ và tiếp tục pha loãng theo 9.3.1.3.

9.3.1.2 Phân huỷ ướt

Trước hết làm nguội dung dịch phân huỷ (9.2.2) đến nhiệt độ phòng trong khi giảm đến áp suất không khí trước khi chuyển hết sang bình định mức một vạch 50 ml (6.3). Pha loãng bằng nước đến vạch 50 ml. Trộn kỹ và tiếp tục pha loãng theo 9.3.1.3.

9.3.1.3 Pha loãng

Tùy theo loại mẫu thử và ion được đo, pha loãng (hệ số pha loãng, f_1) dung dịch thử nghiệm (9.3.1.1 hoặc 9.3.1.2) bằng cách dùng micro pipet (6.5) cho vào các bình định mức một vạch đã yêu cầu (6.3). Thêm một phần thể tích của dung dịch lantan trichlorua 10 % (5.3) (một phần mười thể tích bình đo), sử dụng ống đong chia độ (6.6). Pha loãng bằng nước đến vạch.

9.3.2 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng song song với phép xác định, sử dụng cùng một quy trình và cùng một lượng thuốc thử được bổ sung vào các bước phân huỷ (9.2) và bước xác định (9.3) của phần mẫu thử.

9.3.3 Đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa

Chỉnh máy đo phổ ngọn lửa (6.14) và các điều kiện của ngọn lửa của máy theo hướng dẫn của nhà sản xuất để thu được độ chụm và độ nhạy tối ưu. Cài đặt máy đo phổ ở bước sóng cần thiết tùy thuộc vào ion (chất phân tích) cần xác định (xem 6.14).

9.3.3.1 Hiệu chuẩn

Các thể tích và các nồng độ tương ứng chỉ để hướng dẫn. Chọn cả hai giá trị này trong giải tuyến tính của thiết bị cụ thể được sử dụng (ít nhất năm nồng độ kể cả thành phần zero).

Dùng micro pipet (6.5) chuyển từng thể tích 0 ml (thành phần zero), 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml và 5,0 ml dung dịch chuẩn làm việc (5.8) vào sáu bình định mức một vạch 100 ml (6.3). Bổ sung 10 ml dung dịch

TCVN 6269:2008

dịch lantan tricolorua (5.3) vào mỗi bình. Pha loãng bằng nước đến vạch 100 ml và trộn. Các dung dịch hiệu chuẩn thu được được nêu trong Bảng 3.

Bảng 3 – Các dung dịch hiệu chuẩn

Số lượng bình cầu	Dung dịch ion canxi mg/l	Dung dịch ion natri mg/l	Dung dịch ion kali mg/l	Dung dịch ion magie mg/l
1	0	0	0	0
2	1,0	0,2	0,2	0,1
3	2,0	0,4	0,4	0,2
4	3,0	0,6	0,6	0,3
5	4,0	0,8	0,8	0,4
6	5,0	1,0	1,0	0,5

9.3.3.2 Lập đường chuẩn

Đối với mỗi ion riêng rẽ, đo lần lượt dung dịch thành phần zero và năm dung dịch hiệu chuẩn, mỗi dung dịch đo ba lần. Tính trung bình của các giá trị độ hấp thụ. Lấy các giá trị trung bình của độ hấp thụ trừ đi giá trị trung bình của độ hấp thụ của dung dịch zero. Dựng đồ thị của các giá trị độ hấp thụ thực với nồng độ ion tương ứng.

CHÚ THÍCH Tùy thuộc vào các thiết bị, việc trừ này có thể được thực hiện tự động.

9.3.3.3 Đo dung dịch thử nghiệm

Đo các giá trị hấp thụ của dung dịch thử (9.3.1) và thử trắng (9.3.2) ngay sau các phép đo hiệu chuẩn trong cùng điều kiện đối với từng ion. Pha loãng (hệ số pha loãng, f_2) dung dịch thử với dung dịch thành phần zero (xem 9.3.3.1) nếu tín hiệu của nó cho thấy cao hơn tín hiệu của dung dịch chuẩn cao nhất. Thêm vào mỗi dung dịch pha loãng một lượng dung dịch lantan tricolorua (5.3) để thu được dung dịch 10 % phân thể tích cuối cùng. Lập lại các phép đo. Để kiểm tra độ trạch trong qua trình đo, cần đo ít nhất một dung dịch hiệu chuẩn tại cuối mỗi dãy đối với từng ion.

Đối với mỗi dung dịch thử, lập lại phép đo ba lần. Tính trung bình các giá trị hấp thụ. Lấy giá trị trung bình thu được trừ đi giá trị hấp thụ trung bình của mẫu trắng. Lấy giá trị trung bình đã hiệu chỉnh thu được để đọc hàm lượng tương ứng từ đường chuẩn (9.3.3.2).

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Tính toán

Tính hàm lượng ion, w , theo công thức sau đây:

$$w = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times f_1 \times f_2$$

trong đó

w là phần khối lượng ion (của Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+}) của mẫu thử, tính bằng miligam trên gam;

c là nồng độ ion có trong dung dịch thử (9.3.1), đọc được từ đường chuẩn (9.3.3.2), tính bằng miligam trên lít;

V là thể tích của bình định mức đựng các lượng được chuyển vào tương ứng, lượng tro ($V = 250$ ml) hoặc dung dịch đã phân huỷ ($V = 50$ ml) (9.3.1), tính bằng mililit.

m là khối lượng mẫu thử được sử dụng trong quy trình (9.1.1 hoặc 9.1.2) (đối với bơ, lấy m làm khối lượng của mẫu bơ tương ứng với khối lượng của mẫu huyết thanh được sử dụng trong thử nghiệm, xem 8.6) tính bằng gam;

f_1 là hệ số pha loãng của dung dịch thử được sử dụng trong bước chuẩn bị (9.3.1.3);

f_2 là hệ số pha loãng của dung dịch thử được sử dụng trong bước đo (9.3.3.3).

10.2 Biểu thị kết quả

Ghi kết quả chính xác đến ba chữ số thập phân.

11 Độ chụm

Các giá trị giới hạn độ lặp lại và độ tái lập đã thu được từ các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm thực hiện theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2). Báo cáo đầy đủ về phép thử đã được công bố trong tạp chí IDF [6].

Các giá trị này biểu thị đối với mức xác suất 95 % và 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, cụ thể là đối với các hàm lượng gần với giới hạn của phép xác định (xem ví dụ về casein axit trong Phụ lục A).

TCVN 6269:2008

CHÚ THÍCH Trong phép thử liên phòng đã nói ở trên, các mẫu thử được lấy từ cùng một dung dịch pha loãng sau khi khoáng hoá, đồng thời được phân tích bằng phép đo quang phổ phát xạ cặp plasma cảm ứng quang (ICP-OES). Từ thiết kế này và các kết quả của nó có thể kết luận rằng:

- nhìn chung, dữ liệu về độ chụm đối với ICP-OES tốt hơn so với phương pháp xác định bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), trừ kali;
- cả hai phương pháp cho các giá trị trung bình gần giống nhau, có hơi cao hơn nhưng không đáng kể đối với ICP-OES. Do đó, phương pháp AAS được mô tả trong tiêu chuẩn này được coi là chính xác;
- đối với thực hành, cả phương pháp AAS lẫn phương pháp ICP-OES có thể được coi là tương đương về kết quả.

11.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm độc lập riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do cùng một người tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, dùng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn:

đối với natri (Na^+): 13 %;

đối với kali (K^+): 10 %;

đối với canxi (Ca^{2+}): 8 %; và

đối với magie (Mg^{2+}): 8 %.

CHÚ THÍCH Giá trị phần trăm được biểu thị liên quan đến trung bình các kết quả đối với natri, kali, canxi và magie tương ứng.

11.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả của hai lần thử nghiệm riêng rẽ thu được sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do các người khác nhau phân tích trong các phòng thử nghiệm khác nhau, dùng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá:

đối với natri (Na^+): 19 %;

đối với kali (K^+): 16 %;

đối với canxi (Ca^{2+}): 19 %; và

đối với magie (Mg^{2+}): 13 %.

CHÚ THÍCH Giá trị phần trăm được biểu thị liên quan đến trung bình các kết quả đối với natri, kali, canxi và magie tương ứng.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các điều kiện thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy ý, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến 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)

Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các phép thử cộng tác quốc tế gồm 8 phòng đến 13 phòng thử nghiệm thực hiện trên hai mẫu khác nhau của từng sản phẩm sữa được liệt kê trong các bảng có chứa các phần khối lượng ion natri, kali, canxi và magie khác nhau. Phép thử này do MUVA, Kempten, Đức tổ chức.

Các kết quả thu được đã được phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) để cho dữ liệu về độ chụm như trong các Bảng từ A.1 đến A.4.

Bảng A.1 – Kết quả nghiên cứu liên phòng đối với natri

Mẫu	Số phòng thử nghiệm có kết quả có giá trị (ngoại lệ)	Trung bình của các kết quả có giá trị g/kg	Độ lệch chuẩn của độ lặp lại s_i	Giá trị lặp lại $r=2,8s_i$	Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r) %	Độ lệch chuẩn của độ tái lập s_R	Giá trị tái lập $R=2,8s_R$	Hệ số biến thiên tái lập, CV(R) %	CV(R) _H ^a %	Tỷ số Horwitz HorRat ^b
Dung dịch kiểm chứng	8 (1)	40,2 (mg/l)	0,7	2,0	1,7	0,7	2,0	1,6	9,2	0,2
Mẫu chuẩn BCR 603	12	4,34	0,17	0,49	4,0	0,30	0,85	7,0	4,5	1,5
Whey protein cô đặc	13	1,74	0,10	0,29	6,1	0,16	0,44	9,2	5,2	1,8
Sữa bột nguyên chất	13	2,99	0,14	0,40	4,8	0,26	0,72	8,6	4,8	1,8
Phomat chế biến I	10 (1)	8,17	0,29	0,82	3,6	0,29	0,82	3,6	4,1	0,9
Bột whey	13	6,30	0,29	0,81	4,6	0,47	1,33	7,5	4,3	1,7
Casein (axit)	8 (1)	0,040	0,041	0,11	102	0,046	0,13	114	9,2	12
Phomat chế biến II	12(1)	6,06	0,25	0,71	4,2	0,43	1,19	7,0	4,3	1,6
Phomat đông khô	13	16,8	0,5	1,5	3,2	0,7	1,9	4,0	3,7	1,1
Bột sữa gầy	13	4,05	0,26	0,73	6,4	0,29	0,82	7,2	4,6	1,6

^a hệ số biến thiên tái lập $[(s_R/x) \times 100]$ tính được từ công thức Horwitz, nghĩa là $CV(R)_H = 2^{(1 - 0,5|w|)}$ trong đó w là phần khối lượng (nghĩa là 1 = 100 g/100 g, 0.001 = 1 g/kg)

^b $CV(R)/CV(r)_i$, (xem Horwitz, 1982⁽⁴⁾). Tỷ số Horwitz cho phép so sánh độ chụm thực tế thu được với độ chụm dự đoán của công thức Horwitz đối với phương pháp đo tại mức phân tích cụ thể.

Bảng A.2 – Kết quả nghiên cứu liên phòng đối với kali

Mẫu	Số phòng thử nghiệm có kết quả có giá trị (ngoại lệ)	Trung bình của các kết quả có giá trị g/kg	Độ lệch chuẩn của độ lặp lại s_r	Giá trị lặp lại $r=2,8s_r$	Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r) %	Độ lệch chuẩn của độ tái lập s_R	Giá trị tái lập $R=2,8s_R$	Hệ số biến thiên tái lập, CV(R) %	CV(R) _h ^a %	Tỷ số Horwitz HorRat ^b
Dung dịch kiểm chứng	8 (2)	121 (mg/l)	2	6,2	1,8	3	9,0	2,7	7,8	0,3
Mẫu chuẩn BCR 603	11 (1)	17,0	0,5	1,3	2,7	0,6	1,6	3,4	3,7	0,9
Whey protein cô đặc	12 (1)	5,52	0,27	0,74	4,8	0,37	1,0	6,6	4,4	1,5
Sữa bột nguyên chất	11 (2)	11,8	0,5	1,3	4,0	0,76	2,1	6,4	3,9	1,6
Phomat chế biến I	11	3,52	0,16	0,45	4,5	0,19	0,53	5,3	4,7	1,1
Bột whey	13	23,5	0,6	1,6	2,4	1,2	3,4	5,2	3,5	1,5
Casein (axit)	10 (2)	0,026	0,015	0,042	58	0,022	0,062	85	9,8	8,7
Phomat chế biến II	11 (2)	3,38	0,11	0,30	3,2	0,12	0,34	3,5	4,7	0,7
Phomat đông khô	11 (2)	1,13	0,06	0,18	5,5	0,10	0,28	8,9	5,6	1,6
Bột sữa gầy	10 (1)	16,0	0,25	0,7	1,6	0,68	1,9	4,7	3,7	1,2

Bảng A.3 – Kết quả nghiên cứu liên phòng đối với canxi

Mẫu	Số phòng thử nghiệm có kết quả có giá trị (ngoại lệ)	Trung bình của các kết quả có giá trị g/kg	Độ lệch chuẩn của độ lặp lại s_r	Giá trị lặp lại $r=2,8s_r$	Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r) %	Độ lệch chuẩn của độ tái lập s_R	Giá trị tái lập $R=2,8s_R$	Hệ số biến thiên tái lập, CV(R) %	CV(R) _H ^a %	Tỷ số Horwitz HorRat ^b
Dung dịch kiểm chứng	10 (2)	91,4 (mg/l)	0,8	2,2	0,9	1,9	5,3	2,1	8,1	0,3
Mẫu chuẩn BCR 603	12	12,1	0,2	0,66	2,0	0,8	2,3	6,7	3,9	1,7
Whey protein cô đặc	11 (2)	3,85	0,12	0,33	3,1	0,27	0,76	7,1	4,6	1,5
Sữa bột nguyên chất	12	9,49	0,23	0,64	2,4	0,56	1,6	5,9	4,0	1,5
Phomat chế biến I	11 (2)	4,04	0,06	0,18	1,6	0,26	0,72	6,4	13,0	0,5
Bột whey	12 (1)	4,82	0,36	1,0	5,5	0,38	1,1	7,9	4,5	1,8
Casein (axit)	12 (1)	0,382	0,023	0,06	6,1	0,16	0,44	41,3	6,5	6,3
Phomat chế biến II	12 (1)	2,73	0,06	0,17	2,2	0,20	0,57	7,4	4,9	1,5
Phomat đông khô	12 (1)	11,7	0,2	0,61	1,8	0,7	2,0	6,1	11,1	0,5
Bột sữa gầy	12 (1)	12,9	0,2	0,69	1,9	0,9	2,4	6,7	3,8	1,7

Bảng A.4 – Kết quả nghiên cứu liên phòng đối với magie

Mẫu	Số phòng thử nghiệm có kết quả có giá trị (ngoại lệ)	Trung bình của các kết quả có giá trị g/kg	Độ lệch chuẩn của độ lặp lại s_r	Giá trị lặp lại $r=2,8s_r$	Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r) %	Độ lệch chuẩn của độ tái lập s_R	Giá trị tái lập $R=2,8s_R$	Hệ số biến thiên tái lập, CV(R) %	CV(R) _n ^a %	Tỷ số Horwitz HorRat ^b
Dung dịch kiểm chứng	9 (2)	15,1 (mg/l)	0,2	0,56	1,1	0,2	0,56	1,3	10,6	0,1
Mẫu chuẩn BCR 603	12	1,08	0,02	0,07	2,3	0,04	0,01	3,3	5,6	0,6
Whey protein cô đặc	13	0,578	0,020	0,06	4,0	0,03	0,09	5,5	6,1	0,9
Sữa bột nguyên chất	12 (1)	0,843	0,025	0,07	2,9	0,03	0,07	3,1	5,8	0,5
Phomat chế biến I	13 (1)	0,225	0,006	0,017	2,5	0,008	0,02	3,5	7,1	0,5
Bột whey	13	1,14	0,02	0,06	1,9	0,05	0,14	4,3	5,5	0,9
Casein (axit)	12 (1)	0,054	0,003	0,008	6,2	0,008	0,002	15,4	8,8	1,8
Phomat chế biến II	13	0,171	0,008	0,022	4,7	0,013	0,036	7,4	7,4	1,0
Phomat đông khô	13	0,472	0,02	0,056	4,2	0,035	0,098	7,3	6,3	1,2
Bột sữa gầy	12 (1)	1,14	0,012	0,033	1,0	0,027	0,076	2,4	5,5	0,4

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] HORWITZ, W. Evaluation of analytical methods for regulation of foods and drugs. *Anal. Chem.* 1982, **54**, 67A - 76A
- [5] HORWITZ, W., BRITTON, P., CHIRTEL, S.J. A simple methods for evaluation data from an interlaboratory study. *J. AOAC Int.*, 1998, **81**, 1257 - 65
- [6] CARL, M., NOEL, L. Collaborative study report. *Bull. IDF* (in preparation)
-