

**TCVN 9520:2017
ISO 20649:2015**

**THỨC ĂN CÔNG THỨC DÀNH CHO TRẺ SƠ SINH VÀ
THỰC PHẨM DINH DƯỠNG CHO NGƯỜI LỚN - XÁC ĐỊNH
CROM, SELEN VÀ MOLYPĐEN - PHƯƠNG PHÁP ĐO PHỔ
KHỐI LƯỢNG PLASMA CẢM ỨNG CAO TẦN (ICP-MS)**

*Infant formula and adult nutritionals - Determination of chromium, selenium and molybdenum -
Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)*

Lời nói đầu

TCVN 9520:2017 thay thế TCVN 9520:2012;

TCVN 9520:2017 hoàn toàn tương đương với ISO 20649:2015;

TCVN 9520:2017 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F12
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.

Thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và thực phẩm dinh dưỡng cho người lớn - Xác định crom, selen và molybden - Phương pháp đo phổ khối lượng plasma cảm ứng cao tần (ICP-MS)

Infant formula and adult nutritionals - Determination of chromium, selenium and molybdenum - Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đưa ra được tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng hoặc các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp phổ khối lượng plasma cảm ứng cao tần (ICP-MS) để xác định crom, selen và molybden trong thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và thực phẩm dinh dưỡng dành cho người lớn. Phương pháp này đã được đánh giá xác nhận bằng nghiên cứu liên phòng trên bảy nền mẫu khác nhau.

2 Nguyên tắc

Phần mẫu thử được đun nóng với axit nitric trong hệ thống bình phân hủy kín bằng vi sóng ở nhiệt độ 200 °C. Dung dịch mẫu thử đã phân hủy hoặc pha loãng thích hợp, được đưa vào thiết bị ICP-MS đã được chuẩn hóa bằng axit phù hợp với dung dịch hiệu chuẩn. Dung dịch đệm ion hóa (kali) được sử dụng để giảm thiểu ảnh hưởng của nguyên tố dễ bị ion hóa (EIE), metanol được thêm vào để ổn định hàm lượng carbon, germani và telua được dùng làm chất nội chuẩn. Có thể kết hợp phân tích Cr/Mo/Se đồng thời với phép xác định của tất cả hoặc bất kỳ nguyên tố nào sau đây: Na, K, P, Mg, Ca, Fe, Zn, Cu, Mn. Không bổ sung dung dịch đệm ion hóa nếu các chất chuẩn hiệu chuẩn có chứa sẵn Na, K, Mg và/hoặc Ca.

3 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác. Có thể sử dụng các loại thuốc thử và các hóa chất tương đương.

3.1 Nước tinh sạch, 18 M Ω /cm.

3.2 Axit nitric (HNO₃) đậm đặc, nồng độ từ 65 % đến 70 %, không chứa các kim loại dạng vết.

3.3 Hydro peroxit (H₂O₂), 30 %.

3.4 Metanol, độ tinh khiết $\geq 99,99$ % phù hợp với nền mẫu.

3.5 Dung dịch kali trong axit nitric, nồng độ khối lượng $\rho = 10\,000$ mg/l phù hợp với nền mẫu.

Dung dịch kali có thể được thay thế bằng các chất chuẩn đa nguyên tố có chứa kali, nếu cần xác định đồng thời các nguyên tố chính.

3.6 Chất chuẩn

3.6.1 Dung dịch chuẩn gốc đa nguyên tố Cr/Mo/Se trong axit nitric, $\rho_{Cr} = 2$ mg/l, $\rho_{Mo} = 2$ mg/l và $\rho_{Se} = 1$ mg/l. Các chất chuẩn có độ tinh khiết cao^{TM1)} hoặc tương đương.

3.6.2 Dung dịch chuẩn gốc đa nguyên tố Ge/Te trong axit nitric, $\rho_{Ge} = 5$ mg/l, $\rho_{Te} = 5$ mg/l. Các chất chuẩn có độ tinh khiết cao^{TM1)} hoặc tương đương.

3.6.3 Chất chuẩn SRM 1849a của Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ quốc gia (NIST), hoặc chất chuẩn thích hợp khác để kiểm soát phép phân tích này.

3.7 Chuẩn bị các dung dịch chuẩn

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn trung gian từ các dung dịch chuẩn gốc thương mại có nồng độ crom, molybden và selen tương ứng là 40 ng/ml, 40 ng/ml và 20 ng/ml. Có thể dùng dung dịch chuẩn gốc đa nguyên tố hỗn hợp trong axit nitric. Chuẩn bị ba dung dịch chuẩn làm việc đa nguyên tố có nồng độ crom, molybden tương ứng là 0,8 ng/ml, 4,0 ng/ml, 20 ng/ml và nồng độ selen là 0,4 ng/ml, 2,0 ng/ml, 10 ng/ml và dung dịch trắng có các nồng độ chất nội chuẩn germani và telua 50 ng/ml trong axit nitric. Germani được dùng làm chất nội chuẩn cho crom và molybden, còn telua dùng cho selen.

¹⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho các kết quả tương đương.

4 Thiết bị, dụng cụ

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

4.1 Lò vi sóng

Lò vi sóng được thiết kế cho phòng thử nghiệm sử dụng ở nhiệt độ từ 0 °C đến 300 °C, có hệ thống bình phân hủy kín và có khả năng kiểm soát sự tăng nhiệt độ. Nên dùng bình chịu được áp suất tối đa vì các nguyên liệu hữu cơ và muối carbonat nếu không có đủ thời gian để phân hủy thì sẽ tạo ra áp suất lớn trong quá trình phân hủy. Tiến hành thông khí theo khuyến cáo của nhà sản xuất.

CẢNH BÁO: Khi vận hành lò vi sóng có dung dịch axit với áp suất cao thì phải dùng mặt nạ và quần áo bảo vệ thích hợp.

4.2 Máy đo phổ khối lượng plasma cảm ứng (ICP-MS) có buồng va chạm phản ứng và nguồn hydro và heli. Trong nghiên cứu cộng tác, năm kiểu thiết bị ICP-MS khác nhau từ ba nhà sản xuất cho hiệu năng tương đương.

4.3 Các dụng cụ bằng chất dẻo và pipet. Các ống lấy mẫu tự động/ống bằng chất dẻo dùng một lần để đựng các dung dịch mẫu, các pipet định mức loại A để chuẩn bị dung dịch chuẩn, micropipet 1 000 µl có thể chỉnh thể tích hoặc pipet 500 µl cố định thể tích để bổ sung các chất nội chuẩn, cần được hiệu chuẩn trước khi sử dụng.

4.4 Cân phân tích, có thể đọc được đến 0,0001 g.

5 Cách tiến hành

5.1 Chuẩn bị mẫu thử

Đối với mẫu dạng bột, hoàn nguyên khoảng 25 g mẫu trong 200 ml nước cất ấm (60 °C). Cân chính xác khoảng 1,8 g phần mẫu thử đã hoàn nguyên cho vào bình phân hủy. Mẫu đại diện này chứa khoảng 0,2 g mẫu bột ban đầu. Cân 0,2 g SRM 1849a cho trực tiếp vào bình. Đối với mẫu dạng lỏng được chuẩn bị bằng cách cân chính xác khoảng 1 g phần mẫu thử đã trộn, cho trực tiếp vào bình phân hủy. Đối với việc phân hủy một bước (hai giai đoạn trong chương trình của lò vi sóng), thêm 0,5 ml dung dịch nội chuẩn germani và telua nồng độ 5000 ng/ml dùng micropipet đã hiệu chuẩn để chuyển với độ chính xác nhỏ nhất là 0,8 %. Để tăng hiệu quả của chất nội chuẩn và tăng độ chắc chắn của phương pháp này, không bổ sung trực tiếp các chất nội chuẩn. Thêm 5 ml axit nitric không chứa kim loại dạng vết, sau đó thêm 2 ml hydro peroxit vào bình phân hủy của lò vi sóng. Làm kín bình theo hướng dẫn của nhà sản xuất và đặt vào lò vi sóng. Nâng nhiệt độ từ nhiệt độ môi trường đến 180 °C trong 20 min, giữ nhiệt 20 min ở giai đoạn 1. Ở giai đoạn 2, nhiệt độ của lò vi sóng tự động nâng đến 200 °C trong 20 min và giữ nhiệt ở 20 min, xem Bảng 1.

Bảng 1 – Các thông số vận hành của lò vi sóng

Giai đoạn 1 – Phân hủy mẫu		
1	Công suất	100 % (1600 W)
2	Thời gian tăng nhiệt	20 min
3	Thời gian giữ nhiệt	20 min
4	Nhiệt độ	180 °C
5	Làm mát	20 min
Giai đoạn 2 – Phân hủy mẫu		
1	Công suất	100 % (1600 W)
2	Nâng nhiệt độ	20 min
3	Thời gian giữ nhiệt	20 min
4	Nhiệt độ	200 °C
5	Làm mát	20 min

Đối với lò vi sóng không có chương trình gồm hai giai đoạn thì sẽ tiện lợi hơn nếu sử dụng chương trình phân hủy hai bước. Thêm 0,5 ml dung dịch nội chuẩn germani và telua nồng độ 5000 ng/ml (dùng micropipet đã hiệu chuẩn) và 5 ml axit nitric không chứa kim loại dạng vết. Không bổ sung trực tiếp chất nội chuẩn. Cài đặt công suất thích hợp cho lò vi sóng và số bình, nâng nhiệt độ từ nhiệt độ môi trường đến 200 °C trong 20 min. Giữ ở nhiệt độ 200 °C trong 20 min. Làm nguội bình theo hướng dẫn của nhà sản xuất, khoảng 20 min. Mở từ từ bình chứa, cho bay hơi khí nitơ dioxit có màu nâu.

CẢNH BÁO – Quá trình bay hơi phải được tiến hành trong tủ hút vì nitơ dioxit rất độc.

Thêm 1 ml hydro peroxit và phân hủy lại mẫu bằng cách nâng nhiệt độ từ nhiệt độ môi trường đến 180 °C trong 15 min. Giữ ở 180 °C trong 15 min và làm nguội trong 20 min.

5.2 Chuẩn bị dung dịch thử

Thêm khoảng 20 ml nước cất vào bình chứa mẫu đã phân hủy và chuyển vào lọ đựng mẫu dung tích 50 ml. Tráng bình và chuyển nước tráng vào lọ đựng mẫu. Thêm 0,5 ml metanol vào lọ đựng mẫu và pha loãng bằng nước cất đến khoảng 50 ml. Cách khác, có thể bổ sung trực tiếp metanol theo tỷ lệ 1 % thể tích.

5.3 Phép xác định

Bảng 2 đưa ra các thông số của thiết bị điển hình đối với phép phân tích. Phân tích dung dịch thử bằng thiết bị ICP-MS đã được chuẩn hóa bằng các dung dịch chuẩn đã biết. Germani được dùng làm chất nội chuẩn cho cả crom và molybden (chế độ khí heli) và telua được dùng làm chất nội chuẩn cho selen (chế độ khí hydro).

Nên dùng chế độ khí hydro để xác định Se ở các nồng độ thấp trong thức ăn dành cho trẻ sơ sinh và tùy thuộc vào kiểu thiết bị có thể không dễ dàng chuyển chế độ giữa khí heli và khí hydro. Trong trường hợp này, thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất để chuyển đổi từ chế độ khí heli sang chế độ hydro và tách riêng Se khỏi Cr và Mo. Cách khác, các thực nghiệm riêng rẽ cho thấy rằng giới hạn định lượng thực tế (PLOQ) đối với Se là thấp hơn hoặc bằng 10 ng/g khi sử dụng khí phản ứng/va chạm thay thế. Một phòng thử nghiệm đã thực hiện thành công nghiên cứu độ tái lập sử dụng khí heli và một phòng thử nghiệm khác sử dụng khí amoniac.

Cứ sau 10 phần mẫu thử, phân tích dung dịch chuẩn làm việc Cr và Mo nồng độ 4 ng/ml và Se nồng độ 2 ng/ml hoặc dung dịch kiểm soát chất lượng phù hợp khác, để kiểm tra độ trôi và độ tuyến tính của thiết bị. Kết quả phải nằm trong khoảng 4 % nồng độ danh nghĩa của chất chuẩn. Phép thử trắng (chạy một mẫu, nồng độ đo được phải nhỏ hơn một nửa nồng độ chất chuẩn hiệu chuẩn thấp nhất), mẫu kép [phần trăm sai số tương đối (RPD) $\leq 10\%$ đối với Cr, 7 % đối với Se và 5 % đối với Mo] và các chất chuẩn đã biết làm mẫu kiểm soát (kiểm tra độ thu hồi trong giới hạn kiểm soát) là bắt buộc đối với quy trình thực hành phương pháp tốt. Nếu bất kỳ mẫu kiểm soát nào không đạt chất lượng thì kết quả tính có thể không đúng và cần được đánh giá khẳng định lại. Thứ tự của phép phân tích nên là các chất chuẩn hiệu chuẩn, sau đó trắng rửa, kiểm tra mẫu trắng, kiểm tra chất chuẩn, mẫu kiểm soát, mẫu thử, mẫu thử lặp lại (đến 10 mẫu) và cuối cùng kiểm tra chất chuẩn.

Bảng 2 – Các thông số của thiết bị ICP-MS

Các điều kiện vận hành điển hình	
Công suất cao tần, W	1600
Thế điều hợp cao tần, V	1,8
Độ sâu lấy mẫu, mm	9
Thế tách một thấu kính, V	0
Khí mang, l/min	0,9
Khí phụ trợ, l/min	0,2
Đầu phun sương nhu động (thủy tinh đồng tâm)	MicroMist ^{®a}
Nhiệt độ khoang phun, °C	2
Giao diện hình côn	Ni
Tốc độ dòng khí heli của cột, ml/min	4,5
Tốc độ dòng khí hydro của cột, ml/min	4,2
Tốc độ bơm nhu động, s ⁻¹	0,1 (0,5 ml/min)
Chất phân tích/chất nội chuẩn/loại khí	⁵² Cr, ⁹⁵ Mo/ ⁷² Ge chế độ He ⁷⁸ Se/ ¹³⁰ Te chế độ H ₂
^a Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho các kết quả tương đương.	