

TCVN 6352 : 1998
ISO 8294 - 1994 (E)

**DẦU, MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT - XÁC ĐỊNH HÀM
LƯỢNG ĐỒNG, SẮT, NIKEN - PHƯƠNG PHÁP QUANG
PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ DÙNG Lò GRAPHIT**

*Animal and vegetable fats and oils -
Determination of copper, iron and nickel contents -
Graphite furnace atomic absorption method*

Lời nói đầu

TCVN 6352 : 1998 hoàn toàn tương đương với ISO 8294 : 1994 (E);

TCVN 6352 : 1998 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC/F2 Dầu, mỡ động vật và thực vật biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Dầu, mỡ động vật và thực vật - Xác định hàm lượng đồng, sắt, niken - Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit

Animal and vegetable fats and oils - Determination of copper, iron and nickel contents - Graphite furnace atomic absorption method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định lượng rất nhỏ đồng, sắt, niken trong dầu mỡ động vật và thực vật, sau đây sẽ được gọi chung là chất béo.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

TCVN 6128 - 1996 (ISO 661 : 1989) Dầu mỡ động vật và thực vật - Chuẩn bị mẫu thử.

TCVN 4851 - 89 (ISO 3696 : 1987) Nước dùng trong phòng thí nghiệm phân tích - Đặc tính kỹ thuật và phương pháp thử.

3 Nguyên tắc

Làm bay hơi phần mẫu thử chất béo trong lò graphit được gắn với một máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử, đã được hiệu chuẩn trước bằng các dung dịch chuẩn chứa các hợp chất hữu cơ của kim loại cần xác định. Tính hàm lượng kim loại từ độ hấp thụ ở bước sóng đã chọn.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử là loại phân tích và nước phù hợp với hạng 2 của TCVN 4851 - 89 (ISO 3696:1987).

4.1 Oxit nhôm. loại phân tích

Chú thích 1 - Oxit nhôm thích hợp (chất lượng số 1077) có sẵn ở Merck, D-1600 Darmstadt, Đức.

4.2 Dầu loãng, ví dụ như dầu thực phẩm tinh chế, ở trạng thái lỏng tại nhiệt độ thường.

TCVN 6352 : 1998

Bảo quản dầu trong chai polyetylen hoặc chai polypropylen không có kim loại (5.1). Hàm lượng kim loại của dầu không được vượt quá;

Đồng 3 µg/kg;

Sắt 5 µg/kg; và

Niken 5 µg/kg;

Chú thích 2 - Một mẫu dầu được coi là không chứa kim loại có thể đạt được bằng cách sau.

Hoà tan dầu trong ete dầu hoả (điểm sôi trong khoảng từ 40°C đến 60°C) theo tỷ lệ 1 kg dầu và 3 lít ete dầu hoả. Chuẩn bị một cột ôxit nhôm (tỷ lệ giữa đường kính và độ cao là 1/10) sử dụng gấp đôi lượng ôxit nhôm (được hoạt hoá bằng cách đun nóng ở 150°C trong 14 h) so với lượng dầu được làm tinh khiết. Cho dung dịch vào cột và tiến hành rửa giải bằng một thể tích của ete dầu hoả là 5 trên 3 lần thể tích mẫu được hoà tan trong đó. Làm bay hơi ete dầu hoả từ dung dịch rửa giải trên bếp cách thuỷ bằng cách dùng dòng nitơ nhẹ (2 l/phút đến 5 l/phút). Làm bay hơi vết ete dầu hoả bằng cách hút chân không.

4.3 Dung dịch chuẩn gốc

Chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc chứa những thành phần dự tính bằng cách pha loãng chuẩn kim loại - hữu cơ cùng với dầu loãng (4.2) :

Đồng 2 mg/kg;

Sắt 10 mg/kg; và

Niken 10 mg/kg.

Chú thích 3 - Những chuẩn thích hợp có sẵn ở công ty dầu lục địa, thành phố Ponca Oklahoma, USA (Conostan, 5000 mg/kg) hoặc ở Merck, D-1600 Darmstadt, Đức (1000 mg/kg).

4.4 Dung dịch chuẩn làm việc

Chuẩn bị các dung dịch làm việc như yêu cầu trong ngày sử dụng với các nồng độ sau, bằng cách pha loãng các dung dịch gốc (4.3) với dầu loãng (4.2) :

Đồng : 0,05 mg/kg; 0,1 mg/kg; 0,2 mg/kg

Sắt : 0,25 mg/kg; 0,5 mg/kg; 0,1 mg/kg

Niken : 0,25 mg/kg; 0,5 mg/kg; 1,0 mg/kg

4.5 Dung dịch Niobi [Nb(NO₃)₅] chứa 1000 mg niobi trong 1 l; “dung dịch chuẩn quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) trong matrix nước”.

Chú thích 4 - Dung dịch thích hợp đã có sẵn ở Cục Alfa, 152 phố Andover, danves, MA 01923, Mỹ (số cốt 88083).

4.6 n-Heptan, loại phân tích

4.7 Agon độ tinh khiết tối thiểu 99,99 %.

Chú thích 5 - Nếu không có sẵn agon, khí nitơ có thể được sử dụng để làm khí làm sạch. Ở nhiệt độ trên 2300°C, khí nitơ tạo thành khí độc hydro xianua, vì thế cần thiết thông gió liên tục khu vực lò.

5 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị thí nghiệm thông thường và đặc biệt như sau :

5.1 Các chai và nắp đậy, bằng polyetylen hoặc polypropylen, không có kim loại, dung tích 20 ml và 50 ml.

Chú thích 6 - Nếu cần thiết những chai và nắp đậy có thể làm sạch kim loại bằng cách rửa kỹ với dung dịch axit nitric nóng [$c(\text{HNO}_3) = 1 \text{ mol/l}$], sau đó rửa lại bằng nước và làm khô trong tủ sấy ở nhiệt độ khoảng 80°C.

5.2 Micropipet dung tích 20 μl và 100 μl .

5.3 Pipet.

5.4 Tủ sấy điện, giữ được nhiệt độ ở $150^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

5.5 Máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử, được trang bị hoặc chế độ “chiều cao pic” và máy in hoặc chế độ “ghi liên tục” và máy ghi (độ nhạy của toàn thang đo là 0,2 giây), được gắn với một đèn katốt rỗng thích hợp hoặc đèn phóng điện không điện cực và máy hiệu chỉnh nền deteri.

5.6 Lò nguyên tử hoá graphit, đặt trong máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (5.5), được trang bị một thiết bị điều khiển chương trình nhiệt độ và một ống graphit.

5.7 Ống graphit không phủ, dùng để nguyên tử hoá.

6 Lấy mẫu

Mẫu đưa đến phòng thí nghiệm phải đúng là mẫu đại diện, không hư hỏng và không thay đổi trong quá trình vận chuyển và bảo quản.

Tiêu chuẩn này không quy định phương pháp lấy mẫu. Lấy mẫu theo ISO 5555.

7 Chuẩn bị mẫu

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6128 - 1996 (ISO 661 - 1989).

Không được lọc mẫu

8 Cách tiến hành

Xác định lần lượt hàm lượng từng kim loại.

Chú thích 7 - Nếu cần thiết kiểm tra độ lặp lại có đạt hay không, thì tiến hành hai phép xác định song song dưới điều kiện lặp lại.

8.1 Chuẩn bị thiết bị

8.1.1 Bật máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (5.5) và máy hiệu chỉnh nền deteri.

8.1.2 Theo hướng dẫn của nhà sản xuất, điều chỉnh cường độ của đèn, khe hở, độ dài bước sóng và độ khuếch đại.

Độ dài bước sóng thích hợp cho từng loại kim loại là :

Đồng : 324,7 nm

Sắt : 302,1 nm

Niken : 232,0 nm

8.1.3 Tối ưu hoá vị trí của lò graphit trong máy đo quang phổ hấp thụ nguyên tử (5.5) và cho chạy chương trình điều khiển lò theo bảng 1.

Chú thích 8 - Nếu không điều chỉnh được các máy theo bảng 1, sử dụng một chương trình tương đương phù hợp với các máy này. Nếu trong trường hợp không đạt được việc hiệu chỉnh nền thì pha loãng mẫu trắng, dung dịch chuẩn làm việc (4.4) và những mẫu thử trong dung môi dầu hữu cơ (thí dụ n-heptan) với tỉ lệ tối đa là 1 : 2 (m/m), tiến hành đo quang phổ ở nhiệt độ thường.

Bảng 1 - Chương trình hoạt động của lò nguyên tử hoá graphit

Xác định	Giai đoạn	Nhiệt độ trong lò °C	Thời gian tăng, giây	Thời gian duy trì, giây	Lưu lượng khí trong lò, ml/phút
Đồng	1	900	50	30	300
	2	2700	1	5	50
Sắt, Niken	1	1200	50	30	300
	2	2700	1	5	50

Để xác định hàm lượng của đồng và niken sử dụng một ống graphit không phủ pyrolitic (5.7). Để xác định hàm lượng của sắt, sử dụng một ống được phủ niobi bên trong để chắc chắn rằng toàn bộ lượng sắt được xác định.

Chú thích 9 - Với ống không được phủ thì kết quả khác nhau tùy thuộc vào loại hợp chất của sắt có trong chất béo. Quy trình phủ thích hợp như sau.

Phun 100 µl dung dịch niobi (4.5) vào lò. Bật chương trình nhiệt độ để sấy ở nhiệt độ 100°C trong 60 giây và sau đó nguyên tử hoá ở 2700°C trong 5 giây. Lặp lại quy trình này cho tới khi 300 µl của dung dịch niobi được phun hết. Nguyên tử hoá ở 2700°C cho tới khi có độ hấp thụ đạt được là một hằng số (để loại đi tất cả các nhiễm bẩn sắt).

8.1.4 Trước mỗi lần bơm mẫu, xử lý đầu pipet trước (5.3) bằng cách hút vào rồi bỏ đi 20 µl n-heptan.

Chú thích 10 - Màng của n-heptan còn dính lại trên thành của đầu pipet tạo thuận lợi cho việc hút mẫu sau này.

8.2 Xử lý trước mẫu thử và dung dịch đã chuẩn bị

8.2.1 Cho tất cả mẫu thử, dầu loăng (4.2) và các dung dịch chuẩn làm việc (4.4) vào tủ sấy (5.4) ở 60°C ít nhất là 15 phút trước khi xác định.

8.2.2 Nếu hàm lượng của kim loại trong chất béo được biết nằm ngoài phạm vi đưa ra ở 4.4, pha loăng chúng với dung dịch dầu loăng (4.2).

8.2.3 Lắc kỹ tất cả các mẫu thử và các dung dịch trước khi phân tích.

8.3 Xác định

8.3.1 Ống mẫu trắng graphit

Ghi độ hấp thụ của ống graphit và điều chỉnh thiết bị sao cho số đọc tương ứng với độ hấp thụ bằng không.

8.3.2 Dầu loăng dùng cho mẫu trắng

Bơm 20 µl dầu loăng (4.2) vào lò graphit, bắt đầu chạy chương trình nhiệt độ và ghi độ hấp thụ.

8.3.3 Chuẩn hoá thiết bị

Bơm 20 µl của một trong ba dung dịch chuẩn làm việc của kim loại cần xác định (4.4) vào lò graphit và ghi độ hấp thụ. Lặp lại quy trình này với 2 dung dịch chuẩn làm việc khác.

8.3.4 Phân tích mẫu thử

8.3.4.1 Các mẫu thử lỏng ở 40°C

Bơm 20 µl dung dịch mẫu thử đã được chuẩn bị trước (8.2) vào lò graphit, bắt đầu chạy chương trình nhiệt độ và ghi độ hấp thụ.

8.3.4.2 Các mẫu thử đặc ở 40°C

TCVN 6352 : 1998

Bên cạnh các giai đoạn 1 và 2, giới thiệu thêm bước phụ sau trong chương trình của phần điều khiển : thời gian giữ 20 giây; nhiệt độ 60°C; lưu lượng khí trong lò 0 ml/phút. Đặt chương trình. Trong giai đoạn 1 của chương trình, bơm 20 µl mẫu thử đã được xử lý trước (8.1) vào lò graphit, để đầu ống hút mở ra để làm lỏng chất béo sau đó bơm. Ghi độ hấp thụ.

Chú thích 11 - Giới hạn xác định cũng có thể thấp hơn bởi sự mở rộng của thang đo hay do việc phun lặp lại của mẫu thử vào cuối giai đoạn 1, sau đó hoàn thành chương trình. Nếu hàm lượng kim loại quá cao (nghĩa là vượt quá mức đường cong hiệu chuẩn), mẫu thử (8.2) nên được pha loãng với dầu loãng (4.2) (xem 8.2.2).

8.3.5 Dụng đồ thị chuẩn

Vẽ đường cong chuẩn cho từng kim loại bằng cách dựng đồ thị độ hấp thụ của từng dung dịch chuẩn làm việc (8.3.3) đã được hiệu chỉnh theo mẫu trắng dựa vào hàm lượng kim loại dự kiến (tính theo miligam trên kilôgam).

Chú thích 12 - Có thể sử dụng những thiết bị phức tạp có hiệu chuẩn tự động.

9 Biểu thị kết quả

9.1 Đối với từng mẫu thử, đo chiều cao của pic trên biểu đồ ghi hoặc lấy số đọc trên màn hình hoặc máy in.

9.2 Dùng đồ thị chuẩn tương ứng xác định hàm lượng kim loại của mỗi mẫu, có tính đến sự pha loãng của mẫu.

Biểu thị kết quả theo miligam trên kilôgam.

10 Độ chính xác

Độ chính xác của phương pháp đã được thiết lập bởi phép thử liên phòng thí nghiệm quốc tế do Liên đoàn quốc tế hoá chất tinh khiết và ứng dụng (IUPAC) tổ chức năm 1984 và tiến hành theo TCVN 4550 - 88 (ISO 5725 - 1986).

Trong thử nghiệm này, 32 phòng thí nghiệm đã tham gia và nghiên cứu trên dầu đậu tương và dầu lạc và bơ cacao. Đồng và sắt đã được xác định cả ở mẫu lỏng và mẫu rắn. Niken không cần xác định ở trong bơ ca cao do niken không thể xuất hiện trong bơ cacao.

Đối với các giá trị nhận được về giới hạn độ lặp lại và độ tái lập thì xác suất là 95 %.

10.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng biệt thu được theo cùng một phương pháp trên cùng một nguyên liệu thử trong cùng một phòng thí nghiệm, cùng một loại thiết bị, do cùng một người tiến hành, trong cùng một thời gian ngắn, cần phải không lớn hơn giá trị r trong bảng 2.

Loại bỏ cả hai kết quả nếu chênh lệch vượt quá giá trị tính toán của r và tiến hành 2 phép xác định riêng biệt mới.

10.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng biệt thu được theo cùng một phương pháp trên cùng một nguyên liệu thử do những người thao tác trong các phòng thí nghiệm khác nhau, dùng thiết bị khác nhau tiến hành thì không được lớn hơn giá trị R cho trong bảng 3.

11 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải chỉ rõ :

- phương pháp lấy mẫu (nếu biết);
- phương pháp đã sử dụng;
- kết quả thử thu được và
- nếu độ lặp lại được kiểm tra thì nêu kết quả đã thu được.

Báo cáo kết quả cũng cần đề cập đến tất cả các chi tiết thao tác mà không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với những chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Báo cáo kết quả cũng phải bao gồm tất cả các thông tin cần thiết để nhận biết mẫu một cách đầy đủ.

Bảng 2 - Giới hạn độ lặp lại, r

Giá trị tính bằng miligam trên kilôgam

Nguyên tố	Hàm lượng kim loại w	Mẫu thử	r
Cu	$W_{Cu} < 0,2$	Dầu	$0,010 + 0,14 W_{Cu}$
		Mỡ	$0,008 + 0,11 W_{Cu}$
Fe	$W_{Fe} < 1,0$	Dầu	$0,077 + 0,08 W_{Fe}$
		Mỡ	$0,026 + 0,20 W_{Fe}$
Ni	$W_{Ni} < 1,0$	Dầu	$0,056 + 0,13 W_{Ni}$
Chú thích - \bar{W} là giá trị trung bình của cả 2 kết quả, tính bằng miligam trên kilôgam.			

Bảng 3 - Giới hạn độ tái lập, R

Giá trị tính bằng miligam trên kilôgam

Nguyên tố	Hàm lượng kim loại w	Mẫu thử	R
Cu	$W_{Cu} < 0,2$	Dầu	$0,008 + 0,36 W_{Cu}$
		Mỡ	$0,003 + 0,49 W_{Cu}$
Fe	$W_{Fe} < 1,0$	Dầu	$0,040 + 0,48 W_{Fe}$
		Mỡ	$0,031 + 0,54 W_{Fe}$
Ni	$W_{Ni} < 1,0$	Dầu	$0,027 + 0,44 W_{Ni}$

Chú thích - \bar{W} là giá trị trung bình của cả 2 kết quả, tính bằng miligam trên kilôgam.