



CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 2/7
---	----------------------------------	--

## A. TỔNG QUAN

### I. Phạm vi áp dụng.

- Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng photpho tổng số trong thực phẩm.
- Phương pháp này áp dụng cho mẫu có hàm lượng trong khoảng 0.05% đến 1% P

### II. Tài liệu tham khảo.

- Phá mẫu: AOAC 995.11
- Hiện màu: TCVN 1525:2001

### III. Nguyên tắc.

- Xử lý mẫu bằng cách tro hóa khô. Tạo màu vàng với thuốc thử molipdovanadat. Đo độ hấp thụ bằng quang phổ ở bước sóng 430nm.

### VI. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm.

- Các phương pháp an toàn phòng thí nghiệm cần phải được thực hiện nghiêm ngặt như sử dụng áo blouse, tủ hút, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ lao động khi cần thiết (thao tác pha axit HCl 8M và sử dụng hexan...)
- Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

## B. PHÂN TÍCH

### I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.

Các dụng cụ thí nghiệm phải được rửa sạch và không có chứa phospho.

- Cân phân tích.
- Tủ sấy – có thể điều chỉnh nhiệt độ  $100 \pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Bếp điện.
- Chén sứ.
- Lò nung – có gắn thiết bị thông khí và điều chỉnh nhiệt, phù hợp cho việc tiến hành đốt ở nhiệt độ  $550^{\circ} \pm 25^{\circ}\text{C}$ .
- Bình định mức các loại
- Pipet các loại.
- Máy quang phổ UV-VIS
- Phễu lọc và giấy lọc.

### II. Hoá chất và chất chuẩn.

1. Hóa chất và dung dịch hóa chất:

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 3/7
---	----------------------------------	--

Tất cả hoá chất dùng để thử phải đảm bảo độ tinh khiết phân tích, nước dùng để phân tích là nước cất hoặc ít nhất là nước có độ sạch tương đương, và không có chứa các hợp chất photpho.

- HCl đậm đặc c(12mol/l).
- ZnO.
- HCl 1mol/l: pha loãng 83ml HCl đậm đặc tới 1L dung dịch bằng nước cất.
- KOH 50%: hòa tan 50g KOH trong 50ml nước cất.
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc
- Dung dịch amoni heptamolipdat: Hòa tan 100g (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O trong 500mL nước DI nóng, thêm 10ml dung dịch NH<sub>3</sub> chuyển toàn bộ vào bình định mức 1000mL và định mức lên đến vạch bằng nước DI (dd A).
- Dung dịch amoni monovanadat: Hòa tan 2.35g NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub> trong 500mL nước DI nóng, thêm 7ml dung dịch HNO<sub>3</sub> chuyển toàn bộ vào bình định mức 1000mL và định mức lên đến vạch bằng nước DI (dd B).
- Thuốc thử molipdovanadat: Trộn 200ml dung dịch dung dịch A với 200ml dung dịch B, thêm 135ml acid HNO<sub>3</sub> đổ vào bình định mức 1L và thêm nước tới vạch (nếu dung dịch có cặn thì phải lọc).

## 2. Chất chuẩn và dung dịch chuẩn:

- Pha dung dịch chuẩn làm việc hàng ngày trước khi phân tích. Khi pha dung dịch chuẩn trung gian và chuẩn làm việc phải lấy dung dịch chuẩn gốc ra để ở nhiệt độ phòng rồi mới được tiến hành pha;

- Không được dùng pipét hút thẳng vào dung dịch chuẩn gốc mà phải đổ dung dịch đó ra cốc sạch, khô để hút. Nếu còn thừa không được đổ trở lại mà phải đổ đi.

### a. Dung dịch chuẩn gốc

- Sấy KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck) tinh khiết ở 103°C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm.
- Cân 439mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (đã sấy khô ở 103°C) trên cân phân tích HV.023.H, hòa tan và định mức tới 100ml bằng nước deion. Được dung dịch chuẩn P có nồng độ 1000mg/L.
- Dung dịch chuẩn được bảo quản trong chai nhựa.
- Ghi các thông tin về chuẩn bị chất chuẩn vào trong sổ nhật ký pha hóa chất.
- Bảo quản lạnh ở 4°C.
- Sử dụng được trong vòng 1 năm kể từ ngày pha.

### b. Dung dịch chất chuẩn trung gian 100mg/L

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 4/7
---	----------------------------------	--

- Lấy 10mL dung dịch chuẩn 1000mg/L cho vào bình định mức 100mL, định mức lên bằng nước cất DI.

**c. Dung dịch chất chuẩn làm việc:**

No.	0	1	2	3	4	5	6	7
Nồng độ chuẩn sử dụng	100mg/L							
Thể tích chuẩn sử dụng (mL)	0	0.5	1.0	2.5	5.0	10	15	20
Định mức 50mL bằng DI	50							
Nồng độ dãy chuẩn (mg/L)	0	1	2	5	10	20	30	40

### III. Kiểm soát QA/QC.

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

- Mẫu Blank hóa chất:
- Mẫu lặp
- Mẫu QC

### VI. xử lý mẫu.

#### 1. Chuẩn bị mẫu.

- Đồng nhất mẫu theo “ hướng dẫn công việc đồng nhất mẫu trong phòng thí nghiệm – HD.KT.022”
- Điều kiện bảo quản mẫu: bảo quản mẫu tùy theo nền mẫu khác nhau.

#### 2. Thực hiện phân tích:

##### a. Phá mẫu:

- Cân khoảng 0.5-1.5g mẫu thử đã được đồng nhất, chính xác đến 0.001 cho vào chén sứ. Thêm 0.5g ZnO, trộn đều, đốt trên bếp điện cho đến khi hết khói đen
- Đem nung trong lò nung ở 525<sup>0</sup>C. Giữ nhiệt độ này trong 4h hoặc qua đêm.

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 5/7</p>
--	--	--

- Làm lạnh về nhiệt độ phòng. Thêm 5ml nước và 5ml HCl đậm đặc, đun nhẹ trên bếp 5 phút.
- Lọc vào bình định mức 100ml, tráng rửa chén 4 lần mỗi lần với 5ml nước nóng.
- Làm lạnh về nhiệt độ phòng, trung hòa bằng KOH 50% cho đến khi xuất hiện kết tủa trắng của  $(Zn(OH)_2)$ , thêm 1 giọt HCl cho vừa tan kết tủa, thêm 2 giọt HCl nữa, sau đó định mức lên tới vạch bằng nước cất.

**b. Hiện màu:**

- Pha loãng phần dịch lọc thu được bằng nước để có hàm lượng phospho không vượt quá 40mg/L.
- Dùng pipet hút 10ml dung dịch mẫu và chuẩn cho vào ống ly tâm 50mL.
- Dùng pipet khác hút 10ml dung dịch thuốc thử molidovanadat cho tiếp vào ống ly tâm 50mL ở trên. Lắc đều và để yên ít nhất 10 phút ở 20°C.
- Đo độ hấp thụ trong quang phổ kế ở bước sóng 430nm.

**c. Mẫu trắng:**

- Tiến hành làm mẫu trắng giống như mẫu thực nhưng không có mẫu.

**d. Đo phổ**

- Sau khi cho tác nhân khử vào, mẫu Blank. Đường chuẩn và mẫu được đo màu trên thiết bị UV – Vis trong khoảng thời gian 10 – 30 phút.
- Đo quang ở bước sóng 430nm.
- Sử dụng Blank nước cất có thêm thuốc thử để cell blank ( hoặc Auto Zero).
- Trình tự đo màu:
  - ✓ Các điểm chuẩn từ thấp đến cao
  - ✓ Mẫu blank
  - ✓ Mẫu, mẫu lặp
  - ✓ Chuẩn check.

**C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.**

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 6/7
---	----------------------------------	--

Nồng độ mẫu được tính toán dựa vào đường chuẩn:

$$C(\text{mgP} / \text{L}) = \frac{C_0 \times V_1}{V}$$

Trong đó:

- o C: Nồng độ P trong mẫu, mgP/L
- o C<sub>0</sub>: Nồng độ P tính theo đường chuẩn, mgP/L
- o V: Thể tích mẫu, mL
- o V<sub>1</sub>: Thể tích mẫu định mức sau phá mẫu, mL
- Nếu hàm lượng quy về P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> thì tính theo công thức sau:  

$$\%P_{2O5} = 2.29 * \%P$$
- Nếu kết quả biểu thị theo Phosphatid (lecithin):  

$$\% \text{Lecithin} = 30 * \%P$$

#### D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- Đường chuẩn phải có độ tuyến tính tốt (ít nhất là 05 điểm chuẩn), hệ số tương quan hồi qui tuyến tính (R<sup>2</sup>) phải lớn hơn hoặc bằng 0.995.
- Độ lệch của các dung dịch chuẩn xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá ±10 % giá trị thật.
- Hiệu suất thu hồi của mẫu thêm chuẩn và RSD của lặp phải thỏa tiêu chí ở bảng dưới: (trích từ AOAC Appendix F)

ST T	Hàm lượng	Đơn vị	Độ thu hồi, %	RSD, %
1	100	%	98-102	1.3
2	10	%	98-102	1.8
3	1	%	97-103	2.7
4	0.1	%	95-105	3.7
5	0.01	%	90-107	5.3
6	10	ppm	80-110	7.3
7	1	ppm	80-110	11
8	100	ppb	80-110	15
9	10	ppb	60-115	21
10	1	ppb	40-120	30

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. Ngày ban hành: Lần ban hành: Trang: 7/7
---	----------------------------------	--

**D. BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

- ✓ Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu:
- BM.15.04b
  - BM.15.06