**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG KIM LOẠI CHÌ (Pb), CADIMI(Cd), ARSEN(As), THỦY NGÂN(Hg), ĐỒNG (Cu), KẼM (Zn), SELEN (Se), SẮT (Fe), MANGAN (Mn), CANXI (Ca), MAGIE (Mg), KALI (K), NATRI (Na) TRONG SỮA BẰNG KỸ THUẬT PHÁ MẪU ƯỚT (ICP-MS)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Nhân viên biên soạn | Nhân viên xem xét | Nhân viên phê duyệt |
| Trần Minh Thứ | Trần Thái Vũ | Trần Thái Vũ |

**THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| STT | Vị trí | Nội dung sửa đổi | Ngày sửa đổi |
| **1** |  | Thay đổi format SOP | 29/12/2017 |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

1. **TỔNG QUAN**
2. **Phạm vi áp dụng.**

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định kim loại Arsen (As), Cadimi (Cd), Chì (Pb), Thủy ngân (Hg), Antimon (Sb), Đồng (Cu), Kẽm (Zn), Selen (Se), Sắt (Fe), Mangan (Mn), Canxi (Ca), Magie (Mg), Kali (K), Natri (Na) trong sữa bằng kỹ thuật phá mẫu ướt (ICP-MS).

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| STT | Kim loại | LOD, mg/kg | LOQ, mg/kg |
| 1 | As | 0.05 | 0.15 |
| 2 | Cd | 0.05 | 0.15 |
| 3 | Hg | 0.01 | 0.03 |
| 4 | Pb | 0.02 | 0.06 |
| 5 | Se | 0.05 | 0.15 |
| 6 | Cu | 0.3 | 0.9 |
| 7 | Fe | 0.7 | 2.1 |
| 8 | Mn | 0.3 | 0.9 |
| 9 | Zn | 0.4 | 1.2 |
| 10 | Na | 25 | 75 |
| 11 | K | 25 | 75 |
| 12 | Mg | 25 | 75 |
| 13 | Ca | 25 | 75 |

1. **Tài liệu tham khảo.**

* Tiêu chuẩn này được xây dựng theo: *AOAC official method AOAC 986.15-993.14*
* Tham khảo chéo: *SMEWW 3125 (Mã số: HD.TN.019)*

1. **Nguyên tắc.**

Mẫu sau khi được phân hủy trong HNO3 và H2O2 đậm đặc (hệ kín) sẽ được định lượng trên ICP-MS.

1. **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.
* Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

1. **PHÂN TÍCH**
2. **Thiết bị và dụng cụ phân tích.**
3. Thiết bị cơ bản.

* Bình định mức 25 mL
* Ống Teflon 75 mL
* ống ly tâm 15 mL, 50 mL
* Hệ phá mẫu Hotblock 36 cell, 2000C
* Giấy lọc Whatman no.41
* Cân phần tích chính xác đến 0.01 g.
* Tủ hút hơi acid.

*Các dụng cụ trước khi sử dụng phải được rửa bằng dung dịch axít 2%, sau đó rửa lại nhiều lần bằng nước cất khử ion và để khô tự nhiên.*

1. Thiết bị phân tích

* Hệ thống ICP-MS ELAN DRC-e, PerkinElmer,Canada
* Phần mềm điểu khiển: Elan version 3.4 hotfix 1
* Hệ tiêm mẫu tự động Auto sampler AS 93plus
* Bơm nhu động tích hợp, Superia, USA
* Dây dẫn mẫu silicon (black – black coded), Analytical West, US

1. **Hoá chất và chất chuẩn.**
2. Hoá chất.

* HNO3 đậm đặc
* H2O2 30 %, loại tinh khiết phân tích
* Nước cất khử ion
* Khí Argon 99.999%.

1. Chất chuẩn.

* Các dung dịch chuẩn kim loại 26 chất (Al, Cr, Mn, Cu, Fe, Zn, Na, Mg, Ca...): 100 mg/L, K 1000 mg/L
* Dung dịch chuẩn hỗn hợp kim loại Ca, Mg, K, Na: 10000 mg/L
* Dung dịch chuẩn Hg (HCl 3%): 1000 mg/L

### **Lưu ý**: *các dung dịch chuẩn có thể pha loãng theo thể tích hoặc khối lượng (sử dụng cân, khi tỉ trọng của dung dịch trước và sau pha loãng là như nhau)*

* Dung dịch chuẩn hỗn hợp kim loại 26 chất As, Pb, Zn, Cu… (HNO3 2%): 100mg/L
* *Dung dịch chuẩn trung gian 10 mg/L*: Cân 5.0 g dung dịch chuẩn gốc 100 mg/L vào ống ly tâm 50ml, định mức lên 50 g bằng HNO3 2%.
* *Dung dịch chuẩn trung gian 1mg /L:* Cân 0.5 g dung dịch chuẩn gốc 100 mg/L vào ống ly tâm 50 mL, định mức lên 50 g bằng HNO3 2%.
* Dung dịch chuẩn làm việc 26 chất được pha theo bảng sau:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Stt*** | ***m std hỗn hợp, g*** | ***mđịnh mức, g*** | ***Cstd, µg/L*** |
| 1 | 0.10 | 50 | 2.0 |
| 2 | 0.25 | 50 | 5.0 |
| 3 | 0.50 | 50 | 10.0 |
| 4 | 1.25 | 50 | 25.0 |
| 5 | 2.5 | 50 | 50.0 |
| 6 | 5.0 | 50 | 100.0 |
| 7 | 10.0 | 50 | 200.0 |

* Dung dịch chuẩn Hg (HNO3 10%):) : 1000 mg/L
* Dung dịch chuẩn Hg trung gian 10 mg/L: cân 0.5 g dung dịch chuẩn gốc 1000 mg/L vào ống ly tâm thủy tinh 50 mL, định mức lên 50 g bằng HNO3 2%.
* Dung dịch chuẩn Hg trung gian 1 mg/L: cân 5 g dung dịch chuẩn gốc 10 mg/L vào ống ly tâm thủy tinh 50ml, định mức lên 50 g bằng HNO3 2%.
* Từ các dung dịch chuẩn gốc và trung gian, tiến hành pha loãng trong dung dịch axit HNO3 2% để được các dung dịch chuẩn làm việc Hg có nồng độ từ 2-200 **µg/L**.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Stt** | **m std Hg, g** | **mđịnh mức, g** | **Cstd, µg/L** |
| 1 | 0.10 | 50 | 2 |
| 2 | 0.25 | 50 | 5 |
| 3 | 0.50 | 50 | 10 |
| 4 | 1.25 | 50 | 25 |
| 5 | 2.5 | 50 | 50 |
| 6 | 5.0 | 50 | 100 |
| 7 | 10 | 50 | 200 |

* Dung dịch chuẩn đơn Ca, Mg, K, Na (HNO3 2%):) : 10000 mg/L
* Dung dịch chuẩn hỗn hợp trung gian 100 mg/L: rút 0.5 mL dung dịch chuẩn gốc 10000 mg/L Ca, Mg, K, Na vào bình định mức 50ml, định mức lên vạch bằng HNO3 2%.
* Từ dung dịch chuẩn trung gian, tiến hành pha loãng trong dung dịch axit HNO3 2% để được các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 0.5 -50 **mg/L**.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Stt** | **m std trung gian, g** | **mđịnh mức, g** | **Cstd, mg/L** |
| 1 | 0.25 | 50 | 0.50 |
| 2 | 0.626 | 50 | 1.25 |
| 3 | 1.25 | 50 | 2.50 |
| 4 | 2.5 | 50 | 5.00 |
| 5 | 5.0 | 50 | 10.00 |
| 6 | 12.5 | 50 | 25.0 |
| 7 | 25.0 | 50 | 50.0 |

1. **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: thực hiện song song với mẫu phần tích.
* Mẫu Blank matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
* Mẫu QC phòng thí nghiệm do trưởng nhóm quyết định.

**VI. xử lý mẫu.**

1. Chuẩn bị mẫu.

Đồng nhất và bảo quản mẫu theo hướng dẫn thí nghiệm “HD.KT.022” mục 4.3

1. Phương pháp tiến hành.

Cân chính xác khoảng 1.0 g mẫu vào hệ bom teflon, thêm vào 5 mL HNO3, 2mL H2O2 đậy nắp. Đặt hệ vào lò, nung ở 150oC (không được nung hệ Teflon vượt quá 250oC) trong 2 giờ, lấy ra, để nguội. Dùng pasteur pipet chuyển mẫu ra bình định mức 10 mL. Tráng bình Teflon nhiều lần bằng nước cất khử ion và chuyển vào bình định mức, định mức đến vạch bằng nước cất. Lọc mẫu vào ống nhựa 15 mL và phân tích trên ICP-MS. Pha loãng mẫu nếu cần. thực hiện mẫu trắng song song.

Thực hiện mẫu Blank song song.

**V. Phân tích**

1. Thông số thiết bị:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **timing parameteres** | | **Manual settings** | |
| Sweeps/Reading | 10 | Plasma flow | 15 L/min |
| Reading per Replicates | 1 | Nebulizer flow | 1.1 L/min |
| Number of Replicates | 6 | RF-power | 1200 - 1400 Watts |
| Settling time | Normal |  |  |
| Scan Mode | Peak Hopping |  |  |
| Dwell Time | 100 ms |  |  |
| **Signal Processing** | | **Liquid uptake and washout settings** | |
| Detector Mode | Dual | Sample uptake | 1.3 mL/min at 12 rpm |
| Measurement Units | Cps | Sample flush | 25s |
| Autolens | On | Sample flush speed | 48 rpm |
| Spectral Peak processing | Average | Read delay | 10s |
| Signal Peak Processing | Maximum | Dalay and analysis speed | 26 rpm |
| Blank Subtractions | After internal stadard | Wash time | 35s |
| Baseline Readings | 0 | Wash speed | 48 rpm |
| Smoothing | Yes, factor 5 |  |  |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **analytes** | **isotopes** | **Internal  standard** | **Interferences** | | **Corrections** |
| **background molecular ions** | **matrix molecular ions** |
| Na | **23** |  | ArNH+ |  |  |
| Mg | **24** |  |  | 81BrO+ |  |
| K | **39** |  |  |  |  |
| Ca | **43** |  |  | 37ArCl+ |  |
| Fe | **54** |  |  | 37ClO+ |  |
| Mn | **55** |  | CN+ |  |  |
| Cu | **63** |  |  |  |  |
| Zn | **66** |  |  |  |  |
| As | **75** |  |  |  |  |
| Cd | **114** |  |  |  |  |
| Hg | **202** |  |  |  |  |
| Pb | **208** |  |  |  |  |
| Se | **82** |  |  |  |  |

1. Trình tự của quá trình tiêm mẫu trên thiết bị phân tích.

* Rửa hệ thống với dung dịch acid HNO3 2 % trong khoảng 10 phút
* Tiêm mẫu trắng đường chuẩn, acid HNO3 2%
* Chạy đường chuẩn từ thấp đến cao gồm các nguyên tố cần phân tích
* Rửa lại hệ thống với acid HNO3 2%
* Tiêm chuẩn kiểm tra, sử dụng 2 điểm giữa đường chuẩn
* Tiêm dung dịch rửa hệ thống, acid HNO3 2%
* Tiêm mẫu trắng phương pháp
* Tiêm mẫu phân tích
* Tiêm mẫu thêm chuẩn
* Tiêm chuẩn kiểm tra sau 10 mẫu phân tích trong sequence
* Sau khi kết thúc sequence chạy máy, rửa lại hệ thống với dung dịch HNO3 2%.

1. **TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.**

### Kết quả được tính theo công thức sau:

### *C: Hàm lượng của kim loại trong mẫu, (mg/kg hoặc µg/kg)*

### *C0: nồng độ chất phân tích dựa trên đường chuẩn, (mg/L hoặc µg/L)*

### *Vdm: Thể tích định mức, mL*

### *m: khối lượng cân, g*

### *f: hệ sồ pha loãng (nếu có)*

1. **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 (R2) phải lớn hơn hoặc bằng 0.998.
* Độ lệch của các dung dịch chuẩn tiêm xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá ±10 % giá trị thật.

# Mẫu lặp lại được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu (≤20 mẫu). Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá ±10 %.

* Mẫu QC RM phòng thí nghiệm: nồng độ nằm trong giới hạn biểu đồ kiểm soát (control chart)

1. **BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong biểu mẫu BM.15.04a, BM.15.06