MỤC LỤC

Trang

MỞ ĐẦU **1**
CHƯƠNG I. TỔNG QUAN **3**
1.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CƠ BẢN **3**
1.1.1. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp 3
1.1.2. Độ tập trung 3
1.1.3. Độ chính xác 4
1.1.4. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp 4
1.1.5. Độ không đảm bảo đo 6
1.2. ĐÁNH GIÁ ĐIỀU KIỆN CƠ BẢN CỦA PHƯƠNG PHÁP **7**
1.3. MỘT SỐ CÁCH TIẾP CẬN ĐỂ XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP **8**
1.4. QUY ĐỊNH VÀ YÊU CẦU VỀ CHẤT LƯỢNG ĐỐI VỚI XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP **9**
CHƯƠNG II. XÂY DỰNG QUY TRÌNH XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HOÁ HỌC TRONG LĨNH VỰC MÔI TRƯỜNG **11**
2.1. ĐÁNH GIÁ ĐỘ CHỤM CỦA PHƯƠNG PHÁP **11**
2.1.1. Tính toán độ lặp lại 11
2.1.2. Tính toán độ tái lặp nội bộ/ độ lặp lại trung gian 12
2.2. ĐÁNH GIÁ ĐỘ ĐÚNG CỦA PHƯƠNG PHÁP **15**
2.3. XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN PHÁT HIỆN CỦA PHƯƠNG PHÁP [2] **15**
2.4. ƯỚC LƯỢNG ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO [3] **16**
2.4.1. Tính toán độ KĐBĐ của dụng cụ đo thể tích 18
2.4.2. Tính toán độ KĐBĐ của cân phân tích 18
2.4.3. Tính toán độ KĐBĐ của hoá chất, chất chuẩn 19
2.4.4. Tính toán độ KĐBĐ của độ lặp lại 19
2.4.5. Tính toán độ KĐBĐ của độ thu hồi 19
2.4.6. Tính toán độ KĐBĐ của hàm lượng một chất tính từ đường chuẩn 20
2.4.7. Tổng hợp độ KĐBĐ của kết quả đo 21
CHƯƠNG III. XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ ĐỂ PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG ĐỒNG TRONG MẪU NƯỚC MÔI TRƯỜNG **23**
3.1. ĐÁNH GIÁ ĐỘ CHỤM CỦA PHƯƠNG PHÁP **23**
3.1.1. Đánh giá độ lặp lại 23
3.1.2. Đánh giá độ tái lặp PTN 25
3.2. ĐÁNH GIÁ ĐỘ ĐÚNG CỦA PHƯƠNG PHÁP **29**
3.3. GIỚI HẠN PHÁT HIỆN VÀ GIỚI HẠN ĐỊNH LƯỢNG CỦA PHƯƠNG PHÁP **30**
3.4. ƯỚC LƯỢNG ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO CỦA PHƯƠNG PHÁP **31**
3.4.1. Nguồn độ KĐBĐ 31

3.4.2. Định lượng các nguồn độ KĐBĐ thành phần 32
3.4.2.1. Độ KĐBĐ của các dung dịch chuẩn làm việc 32
3.4.2.2. Độ KĐBĐ của nồng độ mẫu tính từ đường chuẩn 36
3.4.2.3. Độ KĐBĐ của độ lặp lại 38
3.4.2.4. Độ KĐBĐ của độ thu hồi 39
3.4.3. Độ KĐBĐ tổng hợp 42
3.5. KẾT LUẬN 42
KẾT LUẬN 43
DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO 44

DANH MỤC CÁC BẢNG BIỂU

Bảng 2.1. Mẫu trình bày kết quả khảo sát độ lặp lại 12
Bảng 2.2. Mẫu trình bày kết quả khảo sát độ tái lặp trung gian 14
Bảng 3.1. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp đối với nền mẫu nước thải và nước mặt 23
Bảng 3.2. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp đối với nền mẫu nước biển và nước ngầm 24
Bảng 3.3. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước thải 25
Bảng 3.4. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước mặt 26
Bảng 3.5. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước biển 27
Bảng 3.6. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước ngầm 28
Bảng 3.7. Kết quả đánh giá độ thu hồi nguyên tố Cu trong nền mẫu nước thải và nước mặt .. 29
Bảng 3.8. Kết quả đánh giá độ thu hồi nguyên tố Cu trong nền mẫu nước biển và nước ngầm 29
Bảng 3.9. Kết quả xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng 30
Bảng 3.10. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ tính từ đường chuẩn đối với nền mẫu nước thải và nước ngầm 37
Bảng 3.11. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ tính từ đường chuẩn đối với nền mẫu nước mặt và nước biển 38
Bảng 3.12. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ của độ lặp lại 39
Bảng 3.13. Chuẩn bị mẫu khảo sát độ KĐBĐ của độ thu hồi 40
Bảng 3.14. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ của độ thu hồi 40
Bảng 3.15. Kết quả tính toán độ KĐBĐ tổng hợp và độ KĐBĐ mở rộng 42

DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ

Hình 1.1. Các phương pháp ước lượng độ KĐBĐ 6
Hình 1.2. Quy trình ước lượng độ KĐBĐ 7
Hình 2.1. Liệt kê các nguồn độ KĐBĐ 16
Hình 2.2. Định lượng các nguồn độ KĐBĐ 17
Hình 2.3. Cách tổng hợp độ KĐBĐ thành phần 21

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

AOAC	:	Association of Official Analytical Chemists – Hiệp hội phân tích hoá học
APHA	:	American Public Health Association – Hiệp hội Sức khoẻ cộng đồng Mỹ
AWWA	:	American Water Works Association – Hiệp hội các công trình về nước của Mỹ
EPA	:	Environmental Protection Agency of the United States – Cục Bảo vệ môi trường Mỹ
EURACHEM	:	Hiệp hội hoá học Châu Âu
FDA	:	The United States Food and Drug Administration – Cục Thực phẩm và Dược Hoa Kỳ
ICH	:	International Conference for Harmonization – Hội thảo quốc tế về đồng bộ hoá
IUPAC	:	International Union of Pure and Applied Chemistry – Liên minh quốc tế về hoá học lý thuyết và Hoá học ứng dụng
KĐBĐ	:	Không đảm bảo đo
LGC	:	The Laboratory of the Government Chemist – Phòng thí nghiệm Hoá học Liên bang
LOD	:	Limit of Detection – Giới hạn phát hiện
LOQ	:	Limit of Quantitation – Giới hạn định lượng
MDL	:	Method Detection Limit – Giới hạn phát hiện của phương pháp
NIOSH	:	National Institute of Occupational Safety and Health – Viện An toàn lao động và sức khoẻ cộng đồng của Mỹ
SMEWW	:	Standard Method for the Examination of Water and Wastewater – Phương pháp tiêu chuẩn phân tích nước và nước thải
TCEP	:	Trung tâm Đào tạo và Tư vấn Khoa học công nghệ bảo vệ môi trường thuỷ
TCVN	:	Tiêu chuẩn Việt Nam
WEF	:	Water Environment Federation – Cơ quan môi trường nước Liên bang Mỹ

MỞ ĐẦU

1. Tính cấp thiết của vấn đề nghiên cứu

Hiện nay, việc xây dựng và phát triển các phòng thí nghiệm trong lĩnh vực hoá môi trường là một việc làm cần thiết nhằm đáp ứng yêu cầu của Pháp luật trong lĩnh vực bảo vệ môi trường, cụ thể là theo yêu cầu của ISO/IEC 17025:2005 và theo Nghị định 127/2014/NĐ-CP của Chính phủ quy định điều kiện của tổ chức hoạt động dịch vụ năng lực quan trắc môi trường. Hệ thống các phòng thí nghiệm trong lĩnh vực này phải đáp ứng được yêu cầu về mặt hoá chất, thiết bị, tiện nghi môi trường, nhân lực và dựa trên cơ sở vật chất sẵn có, việc lựa chọn một hệ thống phương pháp phân tích phù hợp sẽ quyết định được chất lượng và độ tin cậy của kết quả phân tích.

Hệ thống phương pháp phân tích đang được sử dụng ở Việt Nam hiện nay ngoài các Tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) còn có hệ thống phương pháp theo tiêu chuẩn quốc tế như Hệ thống phương pháp tiêu chuẩn phân tích nước và nước thải (Standard Method for the Examination of Water and Wastewater – SMEWW) do Hiệp hội Sức khoẻ cộng đồng Mỹ (American Public Health Association – APHA), Hiệp hội các công trình về nước của Mỹ (American Water Works Association – AWWA) và Cơ quan môi trường nước Liên bang (Water Environment Federation – WEF) cùng hợp tác xuất bản; phương pháp tiêu chuẩn do Cục Bảo vệ môi trường Mỹ ban hành (Environmental Protection Agency of the United State – EPA Method); phương pháp tiêu chuẩn do Viện An toàn lao động và sức khoẻ cộng đồng của Mỹ ban hành (National Institute of Occupational Safety and Health – NIOSH).

Sau khi đã lựa chọn được một hệ thống phương pháp phù hợp với năng lực của phòng thí nghiệm, bước tiếp theo là cần phải đánh giá xem việc sử dụng các tiêu chuẩn đó để phân tích có đưa ra được kết quả có độ tập trung và độ chính xác thoả mãn với yêu cầu của phương pháp hay không. Công việc đó được gọi là xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp. Triển khai xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp ở các phòng thí nghiệm hoá môi trường ở Việt Nam hiện nay vẫn còn chưa thống nhất về cách thức thực hiện, cách đánh giá. Trên cơ sở đó, nhóm tác giả đã lựa chọn đề tài "Xây dựng quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích hóa học trong lĩnh vực hoá môi trường và áp dụng tính toán đối với phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử xác định hàm lượng Đồng trong mẫu nước".

2. Tổng quan tình hình nghiên cứu thuộc lĩnh vực đề tài

Việc xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp được tiến hành trên cơ sở thẩm định các thông số sau đây:

- Độ tập trung của kết quả đo (độ chụm): tính toán và đánh giá độ lặp lại, độ tái lặp.
- Đánh giá độ đúng của kết quả đo: tính toán và đánh giá độ chệch, độ thu hồi, phân tích và đánh giá kết quả đo mẫu chuẩn được chứng nhận, …

- Tính toán giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp đo.
- Ước lượng độ không đảm bảo đo của phương pháp phân tích.

Các thông số về độ tin cậy của phương pháp sau khi tính toán sẽ được so sánh với các tiêu chí chấp nhận của kiểm soát chất lượng. Việc lựa chọn một bộ tiêu chí phù hợp với năng lực của phòng thí nghiệm sẽ giúp cho việc thực hiện và kiểm soát thực hiện phép thử được thông suốt và có hệ thống.

3. Mục tiêu, đối tượng, phạm vi nghiên cứu

- Mục tiêu nghiên cứu: Đề tài sẽ tiến hành lựa chọn các thông số cơ bản để đánh giá khả năng sử dụng phương pháp phân tích hoá môi trường, thiết kế thí nghiệm, phân công nhân lực thực hiện, xử lý số liệu và lựa chọn tiêu chuẩn đánh giá sự phù hợp.
- Đối tượng nghiên cứu: Phương pháp phân tích hoá học ứng dụng trong phân tích chất lượng môi trường.
- Phạm vi nghiên cứu: Quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích hoá học được xây dựng trên cơ sở vật chất là hệ thống trang thiết bị và hoá chất của phòng thí nghiệm của Trung tâm Đào tạo và Tư vấn Khoa học công nghệ bảo vệ môi trường thuỷ (TCEP) - Trường Đại học Hàng hải Việt Nam.

4. Phương pháp nghiên cứu, kết cấu của công trình nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu: Tổng hợp và kế thừa các nghiên cứu sẵn có về lĩnh vực thẩm định phương pháp, xây dựng một quy trình riêng cho phòng thí nghiệm của TCEP và tiến hành áp dụng để đánh giá giá trị sử dụng của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử xác định hàm lượng Đồng trong mẫu nước.

Đề tài có cấu trúc bao gồm các 3 chương như sau:

- Chương 1. Tổng quan.
- Chương 2. Xây dựng quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích hoá học trong lĩnh vực môi trường.
- Chương 3. Áp dụng xây dựng quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử xác định hàm lượng Đồng (Cu) trong mẫu nước.

5. Kết quả đạt được của đề tài

- Lựa chọn các thông số để xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp, tổng hợp cách tính toán và đánh giá từng thông số.
- Lập quy trình ước lượng độ KĐBĐ đối với các nguồn KĐBĐ thành phần.
- Áp dụng quy trình để xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử xác định hàm lượng Đồng trong mẫu nước.

CHƯƠNG I. TỔNG QUAN

1.1. MỘT SỐ KHÁI NIỆM CƠ BẢN

1.1.1. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (hay còn gọi là thẩm định phương pháp) là "quá trình khẳng định bằng cách kiểm tra và cung cấp bằng chứng khách quan cho thấy các yêu cầu cụ thể đối với mục đích sử dụng nhất định đã được đáp ứng" (ISO/IEC 17025:2005).

Trong đó: "mục đích sử dụng nhất định" chính là yêu cầu thử nghiệm đối với từng thông số bằng một phương pháp phân tích nhất định, "bằng chứng khách quan" chính là số liệu thực nghiệm thu được trong quá trình thực hiện phép thử, và "khẳng định" chính là việc so sánh bằng chứng khách quan có được với một hệ thống tiêu chuẩn đánh giá xem các bằng chứng đó có thoả mãn hay không.

Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp có hai dạng:

- Đối với phương pháp tiêu chuẩn: Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (Method Verification) là quá trình đánh giá phương pháp tiêu chuẩn được áp dụng trong hệ thống điều kiện tiêu chuẩn về tiện nghi môi trường, hoá chất thiết bị có đưa ra được kết quả có độ chính xác đạt yêu cầu hay không.
- Đối với phương pháp không tiêu chuẩn, hoặc phương pháp do phòng thí nghiệm tự xây dựng: Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (Method Validation) là quá trình đánh giá phương pháp dựa trên cơ sở đánh giá kết quả đo trên cùng một mẫu thử khi sử dụng một phương pháp tiêu chuẩn khác hoặc dựa trên việc phân tích các mẫu chuẩn được chứng nhận.

Việc xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp luôn đi kèm với việc công bố giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng của phương pháp đó, ước lượng độ không đảm bảo đo tại các nồng độ thường gặp trong khoảng làm việc của phương pháp.

1.1.2. Độ tập trung

"Độ tập trung hoặc độ chụm (precision) là mức độ tập trung của các giá trị đo lặp của cùng một thông số". (Thông tư 21/2012/TT-BTNMT)

Để đánh giá độ tập trung của phương pháp, tiến hành bố trí thí nghiệm và đánh giá kết quả đo mẫu lặp. Nếu kết quả đo các mẫu lặp càng gần nhau thì phương pháp có độ tập trung tốt và ngược lại.

- Độ lặp lại: được tính là sự thay đổi của kết quả đo trên cùng một mẫu thử trong khoảng thời gian ngắn. Độ lặp lại thể hiện sự sai khác về kết quả đo trong điều kiện các thông số thực hiện phương pháp là cố định: hoá chất, thiết bị, mẫu thử, người phân tích.

- Độ tái lặp: được tính là sự thay đổi của kết quả đo trên cùng một mẫu thử trong khoảng thời gian dài. Độ tái lặp thể hiện sự sai khác về kết quả đo khi cùng một mẫu thử được phân tích bởi cùng một phương pháp nhưng do 2 phòng thí nghiệm tiến hành độc lập (so sánh liên phòng). Tuy nhiên, trong quá trình áp dụng, để giảm bớt chi phí phân tích cho so sánh liên phòng, có thể tiến hành xác định độ tái lặp trung gian (hay còn gọi là độ tái lặp nội bộ) khi dùng cùng một mẫu thử trong khoảng thời gian phân tích kéo dài, cùng một phương pháp nhưng do các thí nghiệm viên khác nhau thực hiện song song. Kết quả đo được tổng hợp và xử lý thống kê để tính toán độ tái lặp trung gian tương tự với độ tái lặp.

1.1.3. Độ chính xác

"Độ chính xác (accuracy) là thước đo độ tin cậy của phương pháp, mô tả độ gần tới giá trị thực của đại lượng đo được". (Thông tư 21/2012/TT-BTNMT)

Để đánh giá độ chính xác của phương pháp, tiến hành bố trí thí nghiệm để xác định độ thu hồi đối với mẫu thêm chuẩn hoặc xác định độ chệch đối với mẫu chuẩn được chứng nhận.

1.1.4. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp

Giới hạn phát hiện của phương pháp (method detection limit – viết tắt là MDL, hoặc Limit of Detection – viết tắt là LOD) là giá trị nồng độ thấp nhất của một chất cần phân tích có độ chính xác đến 99%, nồng độ chất cần phân tích lớn hơn 0 (Thông tư 21/2012/TT-BTNMT).

Trên cùng một phương pháp phân tích, các phòng thí nghiệm khác nhau sẽ công bố các giới hạn phát hiện khác nhau tuỳ thuộc vào tay nghề của nhân viên, sự hoạt động ổn định của máy móc thiết bị và chất lượng của các hoá chất/ chất chuẩn. Trong trường hợp các yếu tố nêu trên không đảm bảo yêu cầu, giới hạn phát hiện của phương pháp sẽ tăng lên nhiều lần so với khuyến nghị của phương pháp gốc. Do đó, việc xác định và công bố giới hạn phát hiện của phương pháp sẽ thể hiện được năng lực của phòng thí nghiệm.

Giới hạn định lượng của phương pháp là giới hạn thấp nhất của chất cần phân tích có thể định lượng được bằng cách phân tích đáp ứng được yêu cầu về độ chính xác. Giới hạn định lượng thường lớn hơn giới hạn phát hiện của phương pháp.

Giới hạn phát hiện (LOD) của một phương pháp phải được tính trên nền thật của mẫu và trải qua toàn bộ các bước xử lí mẫu. Do đó giá trị này chính xác nhất cho việc đánh giá một phương pháp phân tích. Có nhiều cách để xác định giới hạn phát hiện của phương pháp.

<u>Cách 1</u>: Tính LOD từ kết quả đo mẫu có nồng độ thấp nhất để xây dựng đường chuẩn

Giới hạn phát hiện của phương pháp được tính toán theo công thức:

$$LOD = \frac{C_{min} \times t \times A_n}{A_m}$$

Trong đó:

- C_{min}: nồng độ nhỏ nhất của đường chuẩn
- A_n: độ hấp thụ trung bình của nền
- A_m: độ hấp thụ trung bình của nồng độ hấp thụ min
- t: giá trị t tra bảng chuẩn student ứng với n lần làm thí nghiệm.

<u>Cách 2</u>: Tính LOD từ kết quả phân tích mẫu trắng

Xác định theo "quy tắc 3σ" dựa trên kết quả đo mẫu trắng:

$$LOD = X_b + 3\sigma_b$$

LOD – Giới hạn phát hiện

X_b – giá trị trung bình mẫu trắng

σ_b – độ lệch chuẩn của các giá trị đo mẫu trắng.

Để xác định X_b và σ_b, tiến hành n thí nghiệm để xác định các kết quả đo mẫu trắng (n mẫu trắng với n lần xử lý riêng rẽ), thu được các giá trị X_{bi} (i = 1 đến n). Từ đó, tính được:

$$X_b = \frac{\sum X_{bi}}{n}$$

$$\sigma_b = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(X_{bi} - X_b)^2}{n-1}}$$

Kiểm tra sự phù hợp của LOD vừa tính được theo tiêu chuẩn (S/N) (Signal/Noise) với Signal là giá trị trung bình của mẫu trắng ($S = X_b$) và Noise là độ lệch chuẩn của các lần đo mẫu trắng ($S = \sigma_b$).

Nếu 2.5 < S/N < 10: LOD chấp nhận được.

<u>Cách 3</u>: Tính LOD từ kết quả phân tích mẫu thêm chuẩn vào mẫu blank ở nồng độ thấp

Xác định LOD dựa trên kết quả đo mẫu thêm chuẩn: Chuẩn bị một nền mẫu trắng và bổ sung một lượng rất nhỏ chất cần phân tích. Thực hiện phân tích 7 – 10 lần mẫu blank đã thêm chuẩn, sau đó tính LOD theo công thức:

$LOD = t_s.\sigma_b$

Trong đó, t_s là giá trị phụ thuộc vào số lần lặp n và độ tin cậy P% (tra bảng chuẩn số student).

Sau khi tính được LOD, tiến hành kiểm chứng lại theo các tiêu chí sau:

1. $LOD < C_{spike} < 10.LOD$
2. $2.5 < (S/N) < 10$

Giá trị LOD tính được nếu phù hợp với cả hai tiêu chí trên thì được chấp nhận.

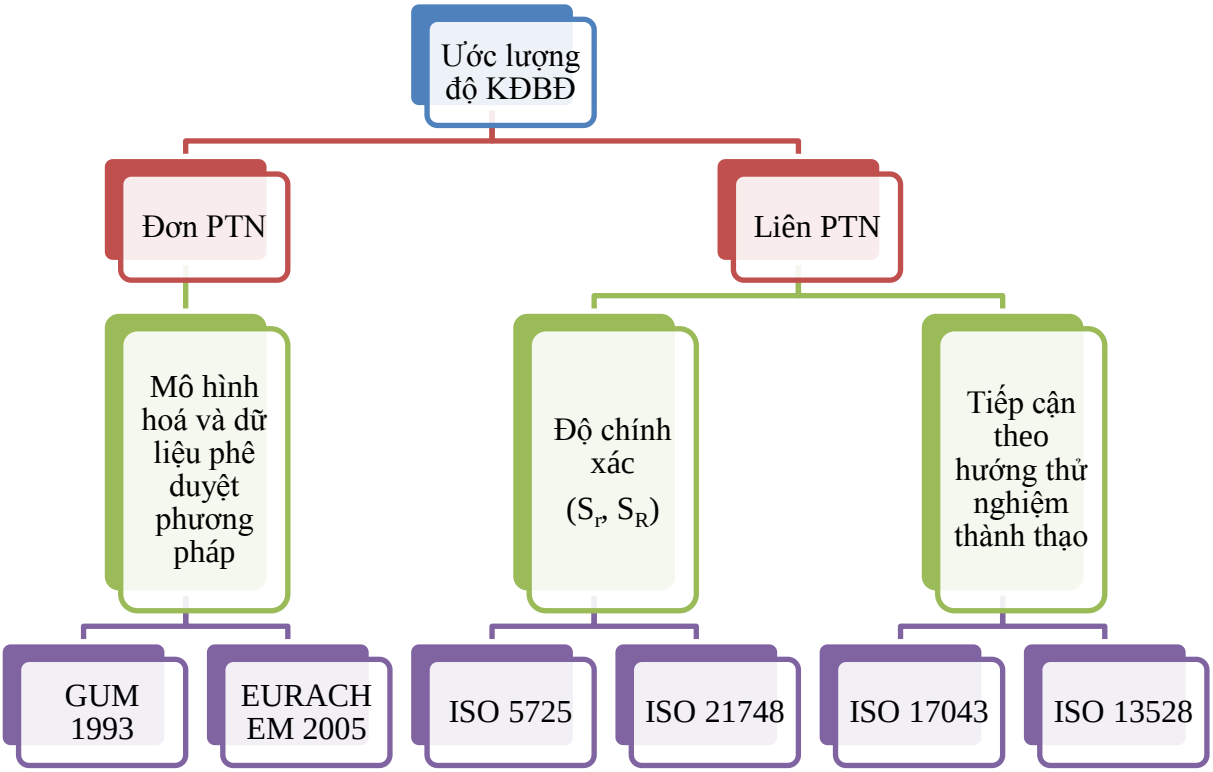
Nếu (S/N) < 2.5 → tăng C_{spike} và tính lại LOD.

Nếu (S/N) > 10 → giảm C_{spike} và tính lại LOD.

1.1.5. Độ không đảm bảo đo

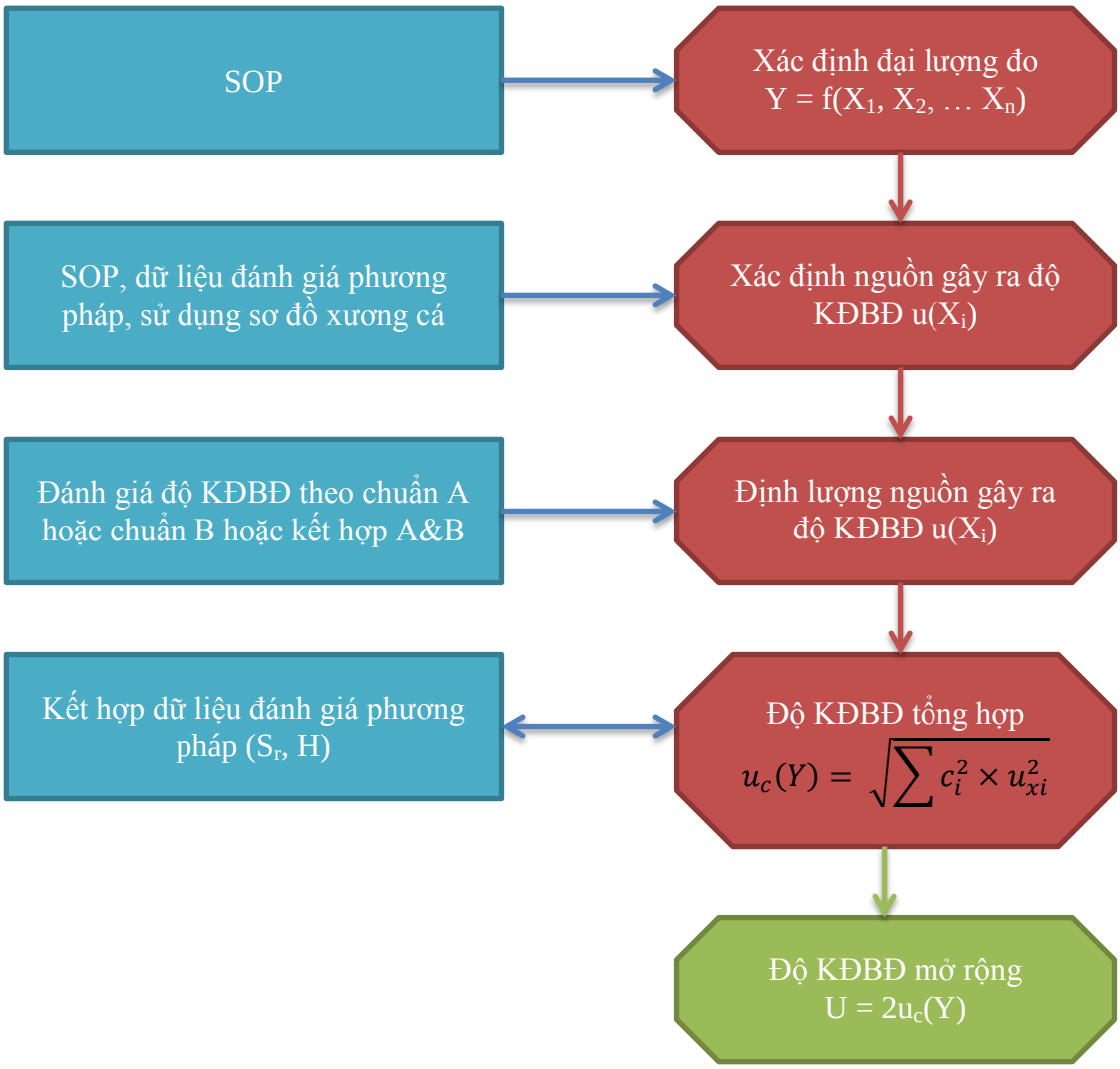
Độ không đảm bảo đo (KĐBĐ) là số nằm sau dấu ±, thông số không âm, đặc trưng cho độ phân tán của kết quả đo, được quy cho đại lượng đo dựa trên các thông tin đã sử dụng. Độ KĐBĐ là khoảng mà giá trị thực nằm trong đó.

Các phương pháp ước lượng độ KĐBĐ được thể hiện trong sơ đồ sau:



Hình 1.1. Các phương pháp ước lượng độ KĐBĐ

Trong các cách tiếp cận trên đây, cách tiếp cận theo yêu cầu của GUM 1993 là phù hợp nhất với đa số phòng thí nghiệm hoá học ở Việt Nam. Quy trình ước lượng độ KĐBĐ theo GUM bao gồm các bước chính như sau:



Hình 1.2. Quy trình ước lượng độ KĐBĐ

Thông thường, độ KĐBĐ được công bố là độ KĐBĐ mở rộng U ứng với hệ số phủ k = 2 tại mức tin cậy 95%. Khi đó, $U = 2.u_c$.

1.2. ĐÁNH GIÁ ĐIỀU KIỆN CƠ BẢN CỦA PHƯƠNG PHÁP

Đối với một phương pháp phân tích hoá học cơ bản, việc đánh giá hệ thống cơ sở vật chất và nhân lực sẵn có của phương thí nghiệm là bước đầu tiên quan trọng nhất trong quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp đó. Việc đánh giá điều kiện cơ bản của phương pháp phải được ghi nhận lại bằng biên bản với đầy đủ các thông tin về hoá chất (nồng độ, hạn sử dụng, …), máy móc thiết bị (ngày hiệu chuẩn, đặc tính kỹ thuật, …), nhân lực (chuyên ngành đào tạo, …).

Việc đánh giá điều kiện cơ bản của phương pháp sẽ giúp cho người quản lý nhận diện được các yếu tố khách quan có thể ảnh hưởng tới chất lượng của kết quả đo. Từ đó, ghi nhận được các nguồn của độ không đảm bảo đo có thể xuất hiện mà không bỏ sót bất kỳ nhân tố nào có thể gây ra sai số.

1.3. MỘT SỐ CÁCH TIẾP CẬN ĐỂ XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP

Có rất nhiều cách tiếp cận để xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp. Các cách tiếp cận đều giống nhau ở cách nhận diện thông số cần đánh giá nhưng khác nhau cơ bản ở cách tính toán và tiêu chí chấp nhận cho các thông số đó. Sau đây là một vài cách tiếp cận của một số tổ chức uy tín.

- Phòng thí nghiệm Hoá học Liên bang (The Laboratory of the Government Chemist – LGC) đã phát triển một quy trình hướng dẫn thẩm định phương pháp nội bộ, trong đó có yêu cầu về việc công nhận các phòng thí nghiệm có liên quan.
- Cục Thực phẩm và Dược Hoa Kỳ (The United States Food and Drug Administration – FDA) đã xây dựng hai bộ tài liệu hướng dẫn cho việc thẩm định phương pháp phân tích và thẩm định phương pháp phân tích sinh học.
- Hội thảo quốc tế về đồng bộ hoá (International Conference for Harmonization – ICH) xuất bản hai hướng dẫn để thẩm định phương pháp. Q2A mô tả các thuật ngữ và định nghĩa cho tám thông số cần được thẩm định. Q2B đưa ra phương pháp thẩm định nhưng cho phép các phòng thí nghiệm áp dụng một cách linh hoạt khi cho phép họ tự lựa chọn quy trình phê chuẩn phù hợp nhất với sản phẩm của họ.
- Liên minh quốc tế về hoá học lý thuyết và Hoá học ứng dụng (International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC) xuất bản "Hướng dẫn xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp cho phòng thí nghiệm đơn lẻ”.
- Hiệp hội hoá học Châu Âu (EURACHEM) đã xuất bản một hướng dẫn chi tiết để xác nhận phương pháp. Đây là hướng dẫn chính thức chi tiết nhất cho lý thuyết và thực tiễn của việc xác nhận phương pháp đã được phát triển chủ yếu cho tiêu chuẩn ISO/IEC về việc công nhận phòng thí nghiệm. Bản hướng dẫn này khá đầy đủ và được ứng dụng tốt cho các phòng thí nghiệm về sinh học và dược phẩm.
- Ludwig Huber (Agilent Technologies) đã xuất bản một cuốn sách tham khảo về việc công nhận các phòng thí nghiệm phân tích với một chương về xác nhận phương pháp.
- Hiệp hội phân tích hoá học (Association of Official Analytical Chemists – AOAC) đã xuất bản một tài liệu kỹ thuật cho việc phê duyệt phương pháp phân tích phù hợp với yêu cầu của Tiêu chuẩn ISO 17025.
- Viswanathan và nhóm nghiên cứu đã phát triển một cái nhìn tổng quan để xác nhận các phương pháp phân tích sinh học.

1.4. QUY ĐỊNH VÀ YÊU CẦU VỀ CHẤT LƯỢNG ĐỐI VỚI XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP

Mỗi tổ chức khi đưa ra một quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp đều đưa ra yêu cầu về chất lượng để đánh giá khả năng áp dụng phương pháp có thoả mãn các yêu cầu đó hay không. Việc lựa chọn bộ thông số và quy trình đánh giá thông thường phải đáp ứng được các yêu cầu của từng ngành nghề, lĩnh vực.

ISO/IEC 17025:2005 là tiêu chuẩn ISO phù hợp nhất cho hệ thống các phòng thí nghiệm phân tích hoá học. Bộ Tiêu chuẩn này đưa ra các yêu cầu chung về năng lực để thực hiện các phép thử, phép hiệu chuẩn hoặc cả hai. Bộ tiêu chuẩn được sử dụng rộng rãi trong các phòng thí nghiệm phân tích môi trường, thực phẩm, hóa chất và các phòng thí nghiệm thử nghiệm lâm sàng nhằm mục đích đánh giá và công nhận các phòng thí nghiệm đạt chuẩn.

Theo yêu cầu của ISO/IEC 17025:2005, các phòng thí nghiệm phải đáp ứng các yêu cầu cơ bản như sau:

- Các phòng thí nghiệm phải xác nhận giá trị sử dụng của các phương pháp không tiêu chuẩn, các phương pháp do phòng thí nghiệm tự xây dựng và phát triển và các phương pháp tiêu chuẩn được áp dụng cho các đối tượng nằm ngoài phạm vi của phương pháp, và sửa đổi các phương pháp tiêu chuẩn để có thể áp dụng tốt nhất trong điều kiện cơ sở vật chất sẵn có của hệ thống phòng thí nghiệm.
- Các phòng thí nghiệm phải xác nhận rằng họ có thể vận hành các phương pháp tiêu chuẩn đúng cách trước khi giới thiệu các thử nghiệm hoặc hiệu chuẩn.

Khi có bất kỳ thay đổi nào trong quá trình thực hiện phép thử đã được thẩm định, cần phải xác định xem các thay đổi đó có mang tính chất lâu dài hay không và trong đa số các trường hợp đều cần phải xác nhận lại giá trị sử dụng của phương pháp.

Trong trường hợp có nhiều phiên bản của một hệ thống tiêu chuẩn về phép thử thì lựa chọn phiên bản mới nhất để sử dụng và xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp theo phiên bản đó.

Quá trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp bao gồm các yêu cầu về mặt kỹ thuật đối với phương pháp, đặc trưng của phương pháp, kiểm tra khả năng áp dụng phương pháp và phải đưa ra được phiếu phê duyệt áp dụng phương pháp do người phụ trách có thẩm quyền xác nhận và công bố hiệu lực áp dụng.

Các thông số sau đây cần được xem xét để phê duyệt phương pháp: giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ chính xác, tuyến tính, độ lặp lại hoặc tái lặp.

Bộ tiêu chuẩn ISO/IEC 17025:2005 quy định rất cụ thể về quy trình phê duyệt phương pháp. Tiêu chuẩn này được áp dụng rộng rãi trong hệ thống các phòng thí

nghiệm hoá học, hoá môi trường, phòng hiệu chuẩn, kiểm định, … Các hệ thống phòng thí nghiệm về hoá dược chưa áp dụng rộng rãi tiêu chuẩn này mà theo các quy định riêng của ngành.

CHƯƠNG II. XÂY DỰNG QUY TRÌNH XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH HOÁ HỌC TRONG LĨNH VỰC MÔI TRƯỜNG

2.1. ĐÁNH GIÁ ĐỘ CHỤM CỦA PHƯƠNG PHÁP

2.1.1. Tính toán độ lặp lại

** Bố trí thí nghiệm:*

Chuẩn bị một lượng mẫu đủ để phân tích lặp lại tối thiểu 7 đến 10 lần, mẫu phải đảm bảo độ bền, không biến tính trong suốt khoảng thời gian phân tích. Nếu phân tích trên nhiều nền mẫu khác nhau (VD: nền mẫu nước thải, nước mặt, nước biển, …) thì thực hiện bố trí thí nghiệm độc lập cho từng loại nền mẫu khác nhau.

Bố trí một thí nghiệm viên thực hiện phép thử trong thời gian 1 ngày và lặp lại 10 lần phép thử. Mỗi lần thực hiện phép thử đều trải qua các bước lấy mẫu, xử lý mẫu, đo đạc và tính toán kết quả độc lập nhau.

Kết quả các các lần đo được ghi lại vào biên bản thử nghiệm.

** Xử lý kết quả:*

Độ lặp lại của kết quả đo được tính theo công thức sau:

$$RSD_r = \frac{S_r}{\bar{X}}$$

Với $\bar{X}$ là giá trị trung bình của n lần đo và S_r được tính là độ lệch chuẩn của n lần đo theo công thức sau:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Tiêu chuẩn đánh giá độ lặp lại (RSD_r) được xác định theo phương trình Horwitz [1]:

$$RSD_{r\ (Horwitz)}\ (\%) = 2.C^{-0.1505}$$

Trong đó, C là nồng độ của chất cần phân tích trong mẫu thử tính theo phần thập phân. Ví dụ: 1 mg/L tương đương với 1mg chất cần phân tích/10^6mg dung dịch. Như vậy, tính theo phần thập phân thì 1mg/L = 10^{-6}.

Theo AOAC, để đạt kết quả tốt nhất, giới hạn cho phép đối với độ lặp lại nên nằm trong khoảng ½ giá trị $RSD_{r\ (Horwitz)}$. Do đó, PTN áp dụng tiêu chuẩn chấp nhận đối với $RSD_{r\ (thực\ nghiệm)}$ là $RSD_r < PRSD_r = ½\ RSD_{r\ (Horwitz)}$

Áp dụng tỷ lệ Horwitz - HorRat (r) (là tỷ số giữa $RSD_{r\ (thực\ nghiệm)}$ và $PRSD_r$) để đánh giá khả năng áp dụng phương pháp. Phương pháp được chấp nhận khi tỷ số HorRat (r) nằm trong khoảng từ 0.3 đến 1.3 [1].

** Trình bày kết quả:*

Kết quả các các lần đo được ghi lại vào biên bản và tính toán các thông số theo mẫu sau đây:

Bảng 2.1. Mẫu trình bày kết quả khảo sát độ lặp lại

Lần	Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước thải (mg/L)		
	C_1	C_2	C_3
1	…	…	…
2	…	…	…
3	…	…	…
4	…	…	…
5	…	…	…
6	…	…	…
7	…	…	…
8	…	…	…
9	…	…	…
10	…	…	…
Trung bình	average(C_{1-1}:C_{1-10})	average(C_{2-1}:C_{2-10})	average(C_{3-1}:C_{3-10})
RSD_r (%)	$RSD_r = \frac{S_r}{\bar{X}}$	$RSD_r = \frac{S_r}{\bar{X}}$	$RSD_r = \frac{S_r}{\bar{X}}$
$PRSD_r$ (%)	$PRSD_r = C^{-0.1505}$	$PRSD_r = C^{-0.1505}$	$PRSD_r = C^{-0.1505}$
HorRat (r)	$RSD_r/PRSD_r$	$RSD_r/PRSD_r$	$RSD_r/PRSD_r$

2.1.2. Tính toán độ tái lặp nội bộ/ độ lặp lại trung gian

** Bố trí thí nghiệm:*

Giả sử xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp cho 1 nền mẫu. Nếu thực hiện với các nền mẫu khác nhau thì thực hiện tương tự một cách độc lập.

- Chuẩn bị một lượng mẫu đủ lớn cho quá trình phân tích kéo dài.
- Thực hiện phân tích 3 mức nồng độ trong khoảng làm việc của phương pháp, mỗi nồng độ phân tích 3 mẫu.
- Hai cán bộ tiến hành phân tích luân phiên trong thời gian 10 ngày làm việc.

** Xử lý kết quả:*

Độ tái lặp nội bộ của kết quả đo được tính theo các bước sau:

- Tính độ lệch chuẩn của các kết quả phân tích của từng mẫu (S_{ri}) theo công thức:

$$S_{ri} = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

- Tổng hợp độ lệch chuẩn của cả 3 mẫu theo công thức:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum(n_{ij} - 1) \times S_{rij}^2}{\sum(n_{ij} - 1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{(10-1) \times S_{r1}^2 + (10-1) \times S_{r2}^2 + (10-1) \times S_{r3}^2}{(10-1) + (10-1) + (10-1)}}$$

$$S_r = \sqrt{\frac{S_{r1}^2 + S_{r2}^2 + S_{r3}^2}{3}}$$

- Tính độ lệch chuẩn của tất cả 30 kết quả đo mẫu: $S_{X_{tb}}$
- Tính độ lệch chuẩn giữa các thí nghiệm viên S_L theo công thức:

$$S_L = \sqrt{\frac{S_{X_{tb}}^2 - S_r^2}{\bar{n}}}$$

- Tính $\bar{n}$ theo công thức sau:

$$\bar{n} = \frac{1}{p-1} \times \left(\sum_{i=1}^{p} n_{ij} - \frac{\sum_{i=1}^{p} n_{ij}^2}{\sum_{i=1}^{p} n_{ij}} \right)$$

Trong trường hợp bố trí 2 thí nghiệm viên thực hiện phép thử thì p = 2, n_{ij} là số lượng phép thử của thí nghiệm viên, j là số thứ tự phép thử. Khi đó:

$$\bar{n} = \frac{1}{2-1} \times \left(15 + 15 - \frac{15^2 + 15^2}{15 + 15} \right) = 15$$

- Khi đó, độ lệch chuẩn tái lặp được tính theo công thức sau đây:

$$S_{Rw} = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$$

- Trong đó, tiêu chuẩn cho phép đối với RSD_{Rw} được xác định theo phương trình Horwitz:

$$RSD_{Rw}\ (\%) < PRSD_{Rw}\ (\%) = 2^{(1-0.5.\log C)}$$

** Trình bày kết quả:*

Kết quả các các lần đo được ghi lại vào biên bản thử nghiệm có dạng như sau:

Bảng 2.2. Mẫu trình bày kết quả khảo sát độ tái lặp trung gian

Ngày	Người thực hiện	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
Ngày 1	Thí nghiệm viên 1	…	…	…
Ngày 2	Thí nghiệm viên 2	…	…	…
Ngày 3	Thí nghiệm viên 1	…	…	…
Ngày 4	Thí nghiệm viên 2	…	…	…
Ngày 5	Thí nghiệm viên 1	…	…	…
Ngày 6	Thí nghiệm viên 2	…	…	…
Ngày 7	Thí nghiệm viên 1	…	…	…
Ngày 8	Thí nghiệm viên 2	…	…	…
Ngày 9	Thí nghiệm viên 1	…	…	…
Ngày 10	Thí nghiệm viên 2	…	…	…
Độ lệch chuẩn từng mẫu		$S_{ri} = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$	$S_{ri} = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$	$S_{ri} = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$
Tổng hợp độ lệch chuẩn các mẫu		$S_r = \sqrt{\frac{S_{r1}^2 + S_{r2}^2 + S_{r3}^2}{3}}$		
Kết quả trung bình của 3 mẫu		$X_{tb} = \frac{X_{1i} + X_{2i} + X_{3i}}{30}$		
Độ lệch chuẩn của cả 30 kết quả		S_{Xtb} = stdev(X_{1i},X_{2i},X_{3i})		
n_{TB}		$\bar{n} = \frac{1}{p-1} \times \left(\sum_{i=1}^{p} n_{ij} - \frac{\sum_{i=1}^{p} n_{ij}^2}{\sum_{i=1}^{p} n_{ij}} \right)$		
S_L		$S_L = \sqrt{\frac{S_{X_{tb}}^2 - S_r^2}{\bar{n}}}$		
S_{Rw}		$S_{Rw} = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$		
RSD_{Rw}		$RSD_{Rw} = \frac{S_{Rw}}{\overline{X_{tb}}}$		

$PRSD_{Rw}$	$PRSD_{Rw}$ (%) = $2^{(1-0.5.logC)}$

2.2. ĐÁNH GIÁ ĐỘ ĐÚNG CỦA PHƯƠNG PHÁP

Để đánh giá độ đúng của phương pháp, tiến hành đánh giá hiệu suất thu hồi của phương pháp.

Để đánh giá hiệu suất thu hồi, sử dụng nền mẫu là các mẫu thực được lấy tại hiện trường hoặc chuẩn bị trong phòng thí nghiệm, đây chính là các mẫu được sử dụng để đánh giá độ chụm của phương pháp. Tiến hành thêm chuẩn từ dung dịch chuẩn gốc và phân tích các mẫu để xác định độ thu hồi của phương pháp, cụ thể như sau:

- Đối với mẫu thêm chuẩn: dùng micropipet lấy chính xác một thể tích dung dịch chuẩn gốc nồng độ đã biết cho vào bình định mức, định mức đến vạch bằng mẫu thực đã chuẩn bị.
- Chuẩn bị mẫu blank bằng cách dùng micropipet lấy chính xác một thể tích nước cất cho vào bình định mức, định mức đến vạch bằng mẫu thực đã chuẩn bị.
- Đo 2 mẫu đã chuẩn bị, khi đó độ thu hồi được tính như sau:

$$H\ (\%) = \frac{F - I}{A} \times 100\%$$

Trong đó:

F là nồng độ tổng của mẫu đã thêm chuẩn;

I là nồng độ của mẫu trắng;

(F – I) là nồng độ thêm tính được;

A là nồng độ chuẩn thêm vào tính toán trên lý thuyết.

Tiêu chuẩn cho phép để đánh giá độ thu hồi theo yêu cầu của phương pháp được quy định cụ thể trong từng phương pháp phân tích.

2.3. XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN PHÁT HIỆN CỦA PHƯƠNG PHÁP [2]

Để xác định giới hạn phát hiện của phương pháp (LOD), tiến hành chuẩn bị các nền mẫu có hàm lượng chất cần phân tích rất thấp hoặc không chứa chất cần phân tích. Sau đó tiến hành thêm chuẩn ở mức nồng độ từ 3 đến 10 lần độ nhạy của phương pháp. Đo lặp 10 lần, tính toán độ lệch chuẩn s_r của các kết quả đo. Khi đó:

$$LOD = t_{value} * s_r$$

Với t_{value} là chuẩn số student ứng với 10 lần đo lặp và độ tin cậy 99%.

Tính toán giới hạn định lượng (LOQ-Limit of Quantitation) theo công thức:

$$LOQ = 10 * s_r$$

Kiểm tra sự phù hợp của giá trị LOD vừa tính được theo các tiêu chí sau:

1. Nồng độ thêm chuẩn vào nền phải nằm trong khoảng cho phép:

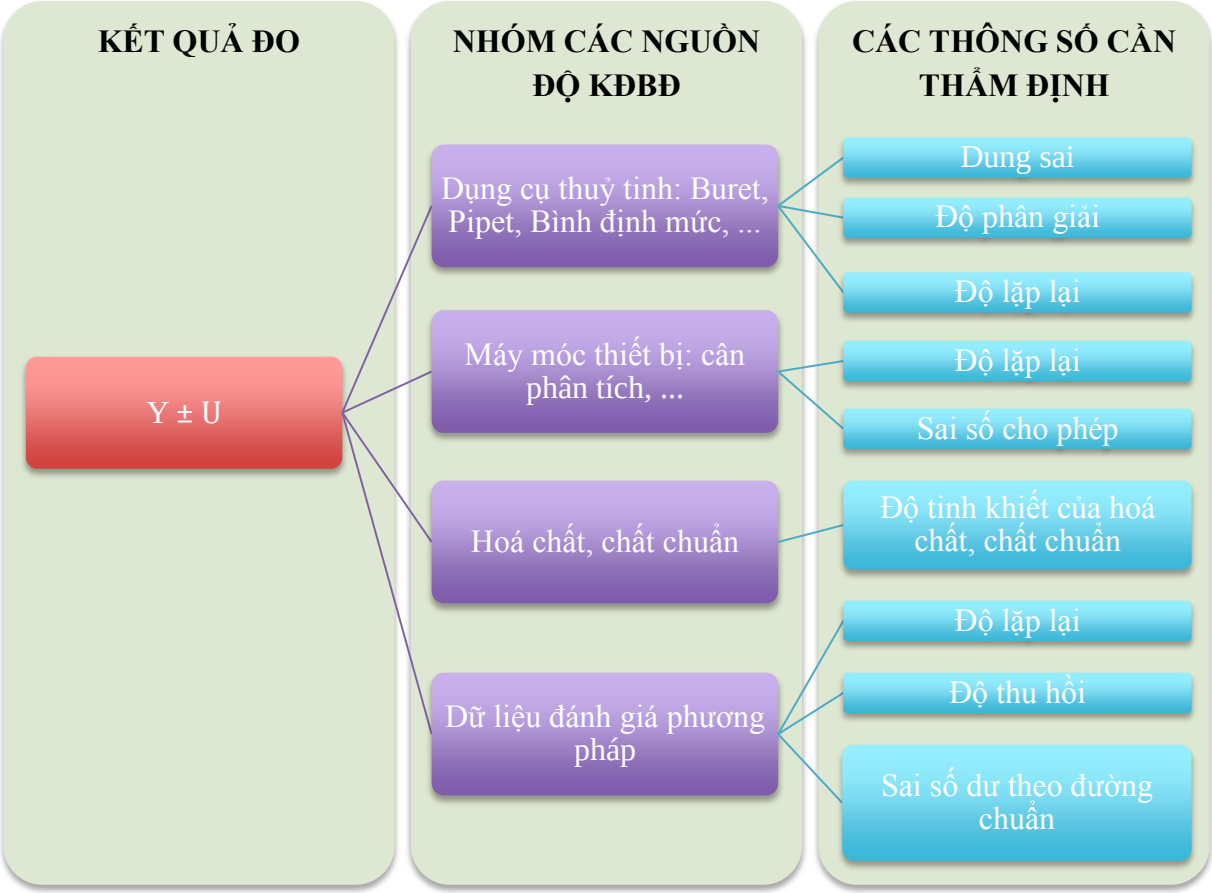
$$10*LOD > C_{spike} > LOD$$

2. Tỷ số S/N (C_{TB}/s_r) phải nằm trong khoảng cho phép: 10 > S/N > 2.5
3. % thu hồi: thoả mãn yêu cầu của phương pháp thử.

Kiểm tra nếu cả 3 tiêu chí trên đều đạt thì giá trị LOD tính được phù hợp với yêu cầu phương pháp và được công bố.

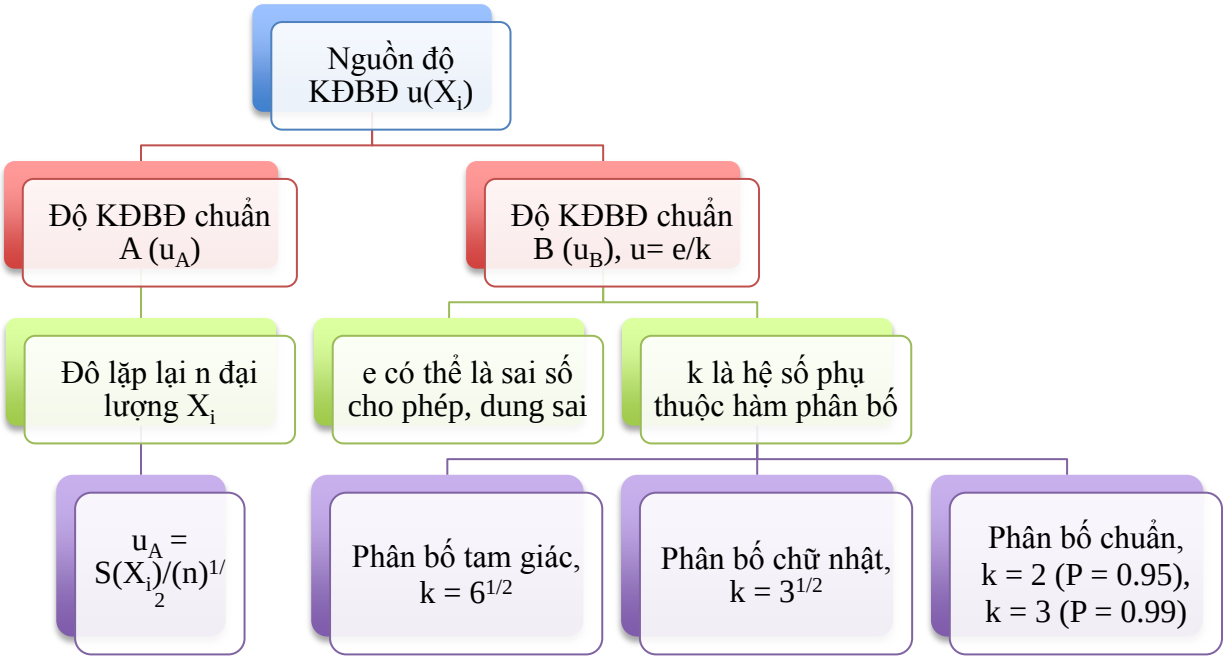
2.4. ƯỚC LƯỢNG ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO [3]

Để xác định đầy đủ và chính xác nguồn của độ KĐBĐ, sử dụng biểu đồ xương cá hoặc biểu đồ có dạng như sau:



Hình 2.1. Liệt kê các nguồn độ KĐBĐ

Sau khi liệt kê các nguồn độ KĐBĐ, tiến hành định lượng từng nguồn độ KĐBĐ thành phần, cụ thể như sau:



Hình 2.2. Định lượng các nguồn độ KĐBĐ

Trong đó, độ KĐBĐ chuẩn kiểu A, ký hiệu là u_A được tính từ các dữ liệu thực nghiệm thông qua việc đo lặp lại nhiều lần trên cùng một mẫu thử theo công thức sau:

$$u_A = \frac{S_x}{\sqrt{n}}$$

Với n là số lần đo lặp và S_x là độ lệch chuẩn của n kết quả đo.

Độ KĐBĐ chuẩn kiểu B, ký hiệu là u_B được ước lượng bằng cách dựa vào độ KĐBĐ đã công bố của các đại lượng đầu vào theo một dạng phân bố chuẩn đã biết. Công thức tính u_B như sau:

$$u_B = \frac{e}{k}$$

Trong đó, e là sai số cho phép do nhà sản xuất cung cấp, hoặc độ KĐBĐ đã biết trước từ đại lượng đầu vào, k là hệ số phụ thuộc vào hàm phân bố của đại lượng đầu vào.

- Phân bố tam giác (áp dụng đối với bình định mức, pipet, buret): $k = \sqrt{6}$.
- Phân bố chữ nhật (áp dụng đối với độ tinh khiết của hoá chất, sai số cho phép của cân phân tích, …): $k = \sqrt{3}$.
- Phân bố chuẩn (áp dụng đối với tuyên bố của nhà hiệu chuẩn, nhà sản xuất, hoặc các dữ liệu độ KĐBĐ có sẵn từ trước): k = 2 (ứng với độ tin cậy P = 0.95) hoặc k = 3 (ứng với độ tin cậy P = 0.99).

Cách tính toán cụ thể đối với từng nguồn độ KĐBĐ thành phần được làm rõ trong các tiểu mục sau đây.

2.4.1. Tính toán độ KĐBĐ của dụng cụ đo thể tích

Các dụng cụ đo thể tích thường dùng trong phân tích bao gồm pipet thuỷ tinh, pipet tự động, pipet bầu, bình định mức. Độ KĐBĐ của các dụng cụ này được tính toán dựa vào việc xác định độ KĐBĐ thành phần bắt nguồn từ độ lặp của dụng cụ (độ KĐBĐ chuẩn kiểu A) và sai số cho phép của dụng cụ (độ KĐBĐ chuẩn kiểu B). Trong đó:

Độ KĐBĐ chuẩn kiểu A (u_A) được tính toán dựa vào các dữ kiện đo lặp lại n lần trên cùng một mẫu thử theo công thức sau:

$$u_A = \frac{S_x}{\sqrt{n}}$$

Với n là số lần đo lặp và S_x là độ lệch chuẩn của n kết quả đo.

Độ KĐBĐ chuẩn kiểu B được ước lượng bằng cách dựa vào chứng nhận của nhà sản xuất. Công thức tính u_B như sau:

$$u_B = \frac{e}{\sqrt{6}}$$

Với e là sai số cho phép do nhà sản xuất cung cấp.

VD: bình định mức dung tích 100 ± 0.02 mL thì e = 0.02mL. Khi đó:

$$u_B = \frac{0.02}{\sqrt{6}} = 0.0082\ (mL)$$

2.4.2. Tính toán độ KĐBĐ của cân phân tích

Cân phân tích là dụng cụ đo khối lượng thường sử dụng nhất trong phân tích hoá học. Có 2 cách tính độ KĐBĐ của cân phân tích:

Cách 1: tính theo chứng nhận của nhà hiệu chuẩn. Nhà hiệu chuẩn sau khi hiệu chuẩn cân thường công bố độ KĐBĐ mở rộng U, như vậy độ KĐBĐ của phép cân được tính là u = U/2.

Cách 2: Dựa trên sai số cho phép của cân theo công bố của nhà sản xuất. Sai số của cân được tính dựa theo phân bố chữ nhật. Khi đó, độ KĐBĐ của thành phần này được tính như sau:

$$u_B = \frac{e}{\sqrt{3}}$$

Với e là sai số cho phép của cân.

VD: cân có sai số là ±1mg sẽ có độ KĐBĐ như sau:

$$u_B = \frac{1}{\sqrt{3}} = 0.58\ (mg)$$

2.4.3. Tính toán độ KĐBĐ của hoá chất, chất chuẩn

Hoá chất và chất chuẩn sử dụng trong phân tích phải được tính toán độ KĐBĐ dựa theo độ tinh khiết của hoá chất đó:

- Nếu là chất chuẩn gốc, khi sử dụng phải pha loãng tới các nồng độ mong muốn hoặc hoá chất được pha từ hoá chất thông thường thì độ KĐBĐ tổng hợp được tính toán dựa trên độ KĐBĐ thành phần của tất cả các dụng cụ đo thể tích và khối lượng được sử dụng trong quá trình pha dung dịch làm việc, bao gồm:
    - Bình định mức.
    - Pipet, pipet tự động, pipet bầu.
    - Cân phân tích.
    - Độ tinh khiết của hoá chất: theo phân bố chữ nhật: $u_B = \frac{e}{\sqrt{3}}$

      VD: hoá chất có độ tinh khiết là 99.9% thì e = 0.1% = 0.001. Khi đó độ KĐBĐ của thành phần này là: $u_B = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 0.00058$
- Nếu là ống chuẩn (chuẩn được chứng nhận – CRMs), khi sử dụng phải chú ý tới độ KĐBĐ mở rộng U được công bố cho mẫu chuẩn đó. Khi đó, độ KĐBĐ của dung dịch chuẩn này được tính là u = U/2.

2.4.4. Tính toán độ KĐBĐ của độ lặp lại

Khi xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp, bố trí thí nghiệm để tính toán độ lặp lại của phương pháp bằng cách phân tích lặp lại n mẫu, sau đó tính độ lệch chuẩn S_r của n kết quả đo theo công thức:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Khi đó, độ KĐBĐ của thành phần này được tính như sau:

$$u_r = \frac{S_r}{n}$$

2.4.5. Tính toán độ KĐBĐ của độ thu hồi

Tính toán độ thu hồi của phương pháp có thể tiến hành theo 3 cách:

<u>Cách 1</u>: sử dụng mẫu chuẩn được chứng nhận CRM, mẫu này được công bố độ KĐBĐ mở rộng U_{CRM}. Độ thu hồi của phép đo được tính theo công thức sau:

$$H = \frac{C_{obs}}{C_{CRM}} \times 100\%$$

Với C_{obs} là nồng độ tính toán được thực tế, C_{CRM} là nồng độ niêm yết của chuẩn được chứng nhận.

Khi đó, độ KĐBĐ của thành phần này được tính như sau:

$$u_H = H \times \sqrt{\left(\frac{S_{C_{obs}}}{C_{obs} \times \sqrt{n}}\right)^2 + \left(\frac{U_{CRM}}{2 \times C_{CRM}}\right)^2}$$

Cách 2: sử dụng mẫu thu hồi (spike chuẩn vào mẫu trắng), khi đó, độ thu hồi của phép đo được tính theo công thức sau:

$$H = \frac{C_{obs}}{C_{spike}} \times 100\%$$

Với C_{obs} là nồng độ tính toán được thực tế, C_{spike} là nồng độ thêm chuẩn vào mẫu trắng theo lý thuyết.

Khi đó, độ KĐBĐ của thành phần này được tính như sau:

$$u_H = H \times \sqrt{\left(\frac{S_{C_{obs}}}{C_{obs} \times \sqrt{n}}\right)^2 + \left(\frac{u_{C_{spike}}}{C_{spike}}\right)^2}$$

Cách 3: thêm chuẩn vào mẫu có chứa một hàm lượng chất nhất định. Khi đó, độ thu hồi được tính theo công thức sau:

$$H = \frac{F - I}{A} \times 100\%$$

Với F là nồng độ của mẫu sau khi thêm chuẩn, I là nồng độ của mẫu thực, A là nồng độ chuẩn thêm vào theo lý thuyết.

Khi đó, độ KĐBĐ của thành phần này được tính như sau:

$$u_H = H \times \sqrt{\left(\frac{s_F^2 + s_I^2}{n \times (F - I)^2}\right)^2 + \left(\frac{u_A}{A}\right)^2}$$

2.4.6. Tính toán độ KĐBĐ của hàm lượng một chất tính từ đường chuẩn

Độ KĐBĐ của hàm lượng một chất tính từ đường chuẩn được tính toán trên đường hồi quy.

Giả sử phương trình đường chuẩn y = a + b.x được xây dựng từ N điểm chuẩn (x_i; y_i) với x_i là nồng độ điểm chuẩn, y_i là độ hấp thụ tương ứng với x_i.

Dựa trên phương trình đường chuẩn y = a + b.x sẽ tính lại được giá trị $\hat{y}_i$. Khi đó, sai số dư của đường chuẩn $S_{y/x}$ được tính theo công thức sau:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum(y_i - \hat{y}_i)^2}{N - 2}}$$

Đo mẫu thực và tính toán nồng độ $X_{\text{đường chuẩn}}$ dựa theo đường chuẩn. Đo lặp lại mẫu thực m lần.

Khi đó, độ KĐBĐ $u_{X_{\text{đường chuẩn}}}$ của thành phần này được tính toán như sau:

$$u_{X_{đường\ chuẩn}} = \frac{S_{y/x}}{b} \times \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{m} + \frac{(\overline{y_0} - \bar{y})^2}{b^2 \times \sqrt{(x_i - \bar{x})^2}}}$$

Trong đó:

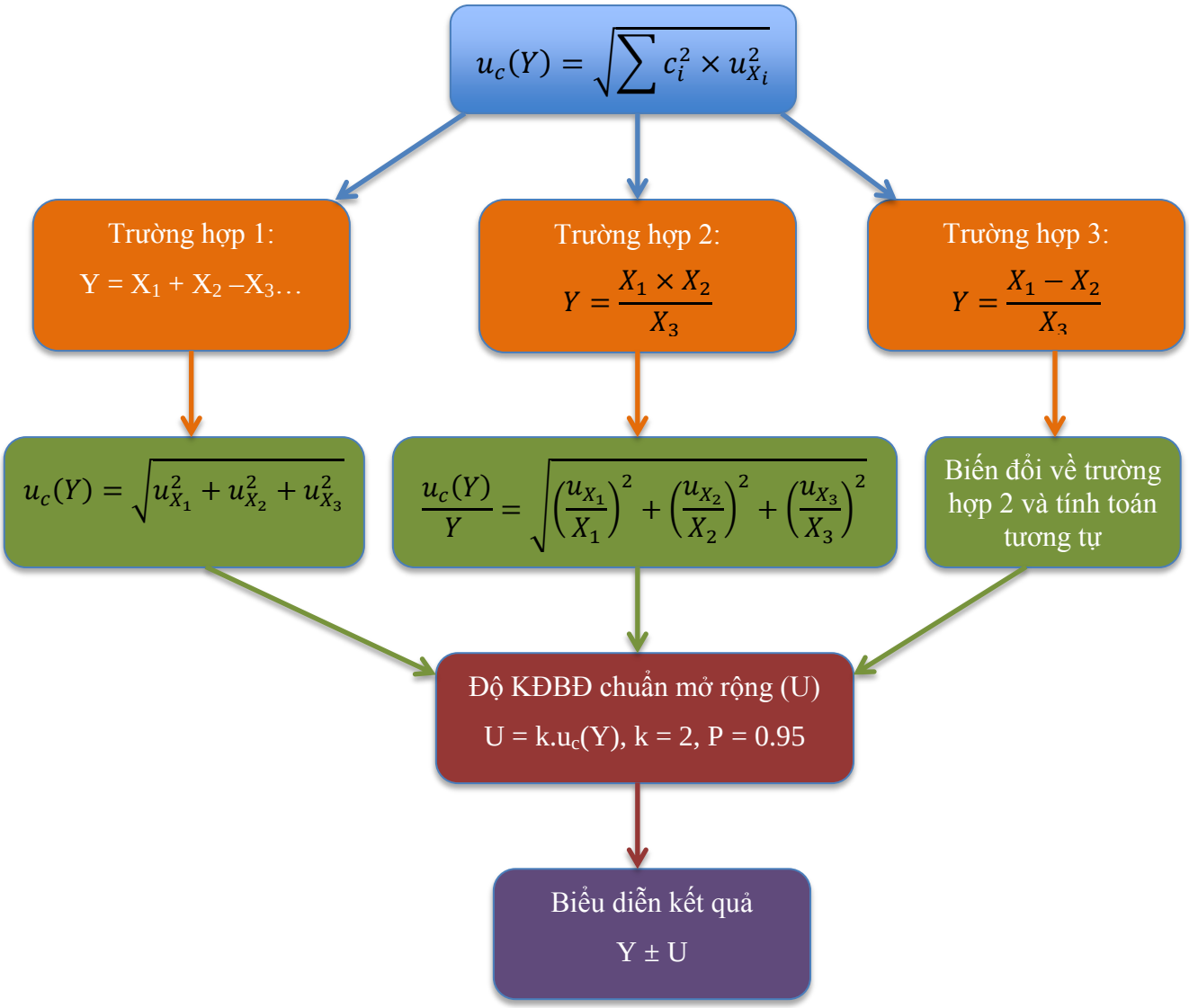
$$\bar{y} = \frac{y_1 + y_2 + \cdots + y_N}{N}$$

2.4.7. Tổng hợp độ KĐBĐ của kết quả đo

Sau khi định lượng tất cả các độ KĐBĐ thành phần, tính toán độ KĐBĐ tổng hợp theo công thức:

$$u_c(Y) = \sqrt{\sum c_i^2 \times u_{X_i}^2}$$

Với Y = f(X_1, X_2, … X_n). Cách tính toán cụ thể từng trường hợp như sau:



Hình 2.3. Cách tổng hợp độ KĐBĐ thành phần

Kết quả được thể hiện là Y ± U và tuyên bố U là độ KĐBĐ mở rộng với hệ số phủ k = 2 tại mức tin cậy P = 95%.

Đơn vị của độ KĐBĐ chính là đơn vị của đại lượng cần đo. Trong một số trường hợp, có thể thể hiện đơn vị của độ KĐBĐ dưới dạng %.

CHƯƠNG III. XÁC NHẬN GIÁ TRỊ SỬ DỤNG CỦA PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ ĐỂ PHÂN TÍCH HÀM LƯỢNG ĐỒNG TRONG MẪU NƯỚC MÔI TRƯỜNG

3.1. ĐÁNH GIÁ ĐỘ CHỤM CỦA PHƯƠNG PHÁP

Để đánh giá độ chụm của phương pháp, chúng tôi tiến hành đánh giá trên 4 nền mẫu mà PTN thường phân tích là nước thải, nước mặt, nước biển và nước ngầm. Trong đó, mỗi nền mẫu chúng tôi đánh giá ở ba mức nồng độ thường phân tích nằm trong khoảng làm việc của phương pháp để đảm bảo tính đại diện và thống nhất của phương pháp.

Độ chụm của phương pháp được thẩm định thông qua việc tính toán độ lặp lại (RSD_r) và độ tái lặp phòng thí nghiệm (RSD_{Rw}).

3.1.1. Đánh giá độ lặp lại

Để đánh giá độ lặp lại, chúng tôi chọn 4 nền mẫu được lấy tại hiện trường (nước thải, nước mặt, nước biển, nước ngầm), mỗi nền mẫu được khảo sát tại 3 mức nồng độ thường phân tích nằm trong khoảng làm việc, bổ sung các hóa chất và thực hiện các thao tác xử lý mẫu theo đúng tiến trình phương pháp. Mỗi nền mẫu được thực hiện phân tích lặp lại 10 lần.

Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp được trình bày trong các bảng sau:

Bảng 3.1. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp đối với nền mẫu nước thải và nước mặt

Lần	Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước thải (mg/L)			Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước mặt (mg/L)		
	0.5	2.5	5.0	0.1	0.5	1.0
1	0.448	2.429	5.083	0.082	0.519	1.038
2	0.482	2.384	4.921	0.091	0.550	0.958
3	0.467	2.544	4.904	0.104	0.505	0.982
4	0.488	2.418	5.077	0.085	0.485	1.014
5	0.532	2.405	5.154	0.112	0.501	1.042
6	0.552	2.438	4.953	0.124	0.518	0.974
7	0.506	2.484	4.923	0.097	0.439	1.029
8	0.497	2.484	5.081	0.107	0.535	0.996
9	0.511	2.539	4.903	0.094	0.471	1.022
10	0.563	2.427	5.092	0.099	0.517	0.989

Lần	Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước thải (mg/L)			Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước mặt (mg/L)		
	0.5	2.5	5.0	0.1	0.5	1.0
Trung bình	0.505	2.455	5.01	0.100	0.504	1.004
RSD_r (%)	7.2	2.2	1.9	12.8	6.4	2.9
$PRSD_r$ (%)	8.9	7.0	6.3	11.3	8.9	8.0
HorRat (r)	0.81	0.32	0.31	1.13	0.72	0.36

Bảng 3.2. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp đối với nền mẫu nước biển và nước ngầm

Lần	Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước biển (mg/L)			Nồng độ khảo sát đối với nền mẫu nước ngầm (mg/L)		
	0.1	0.5	1.0	0.5	2.5	5.0
1	0.121	0.522	1.028	0.488	2.437	4.889
2	0.096	0.489	0.958	0.459	2.586	5.052
3	0.114	0.478	0.989	0.533	2.531	5.094
4	0.089	0.471	1.043	0.479	2.489	4.832
5	0.094	0.521	1.022	0.485	2.495	5.099
6	0.099	0.592	0.969	0.445	2.556	4.883
7	0.079	0.493	1.021	0.539	2.418	5.028
8	0.121	0.458	0.979	0.492	2.409	4.909
9	0.096	0.533	0.942	0.489	2.549	5.132
10	0.113	0.491	1.014	0.563	2.565	5.009
Trung bình	0.102	0.505	0.997	0.497	2.504	4.993
RSD_r (%)	14.0	7.7	3.4	7.4	2.6	2.1
$PRSD_r$ (%)	11.3	8.9	8.0	8.9	7.0	6.3
HorRat (r)	1.23	0.87	0.42	0.83	0.37	0.34

- Độ lặp lại của phép thử hoàn toàn phù hợp với yêu cầu ($RSD_r < PRSD_r$).
- Tất cả các tỷ số Horwitz của các nền mẫu tại các mức nồng độ khảo sát nằm trong khoảng 0.3 đến 1.3 ➔ Phương pháp đạt yêu cầu về độ lặp lại.

3.1.2. Đánh giá độ tái lặp PTN

Để đánh giá độ tái lặp PTN RSD_{Rw}, chúng tôi tiến hành như sau:

- Thực hiện khảo sát với 4 nền mẫu khác nhau: nước thải, nước mặt, nước biển, nước ngầm.
- Chuẩn bị một lượng mẫu đủ lớn cho quá trình phân tích kéo dài.
- Thực hiện phân tích tất cả 4 nền mẫu, mỗi nền mẫu phân tích 3 mức nồng độ trong khoảng làm việc của phương pháp, mỗi nồng độ phân tích 3 mẫu.
- Hai cán bộ tiến hành phân tích luân phiên trong thời gian 10 ngày làm việc.
- Kết quả được trình bày trong bảng sau:

Bảng 3.3. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước thải

Ngày	**Nước thải**								
	Nồng độ 0.5 mg/L			Nồng độ 2.5 mg/L			Nồng độ 5.0 mg/L		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
1	0.448	0.488	0.482	2.482	2.593	2.552	5.033	4.995	5.054
2	0.503	0.472	0.442	2.439	2.439	2.439	4.941	5.082	4.951
3	0.552	0.482	0.509	2.582	2.443	2.405	4.903	4.914	4.903
4	0.439	0.511	0.573	2.544	2.592	2.539	5.104	5.109	5.068
5	0.482	0.552	0.528	2.459	2.538	2.599	5.078	5.068	5.114
6	0.477	0.459	0.47	2.481	2.493	2.481	4.937	4.937	4.932
7	0.53	0.498	0.538	2.533	2.452	2.489	4.997	4.962	4.906
8	0.583	0.429	0.478	2.582	2.448	2.522	5.074	5.088	5.038
9	0.469	0.562	0.491	2.501	2.453	2.569	5.532	4.892	4.992
10	0.489	0.519	0.488	2.558	2.573	2.429	5.093	5.045	4.942
TB	0.4972	0.4972	0.4999	2.5161	2.5024	2.5024	5.0692	5.0092	4.99
Sr_i	0.0457	0.0407	0.0379	0.0509	0.0650	0.0645	0.1777	0.0793	0.0743
S_r	0.0416			0.0605			0.1203		
X_{tb}	0.498			2.507			5.023		
S_{Xtb}	0.0049			0.0250			0.1306		
n_{TB}	10			10			10		
S_L	0.0131			0.0174			0.0161		
S_{Rw}	0.0436			0.0630			0.1213		

Ngày	Nước thải								
	Nồng độ 0.5 mg/L			Nồng độ 2.5 mg/L			Nồng độ 5.0 mg/L		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
RSD_{Rw}	8.7			2.5			2.4		
$PRSD_{Rw}$	17.8			13.9			12.6		

Bảng 3.4. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước mặt

Ngày	Nước mặt								
	Nồng độ 0.1 mg/L			Nồng độ 0.5 mg/L			Nồng độ 1.0 mg/L		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
1	0.089	0.088	0.084	0.512	0.448	0.572	1.083	0.968	1.011
2	0.112	0.121	0.095	0.593	0.482	0.492	1.033	0.909	0.958
3	0.094	0.079	0.095	0.489	0.538	0.428	0.995	1.052	1.049
4	0.103	0.113	0.113	0.466	0.544	0.553	0.948	1.079	0.958
5	0.093	0.087	0.121	0.539	0.474	0.549	1.062	0.958	1.039
6	0.095	0.079	0.095	0.525	0.501	0.519	0.958	0.982	0.958
7	0.079	0.088	0.094	0.442	0.511	0.489	0.927	1.042	0.974
8	0.112	0.109	0.102	0.421	0.473	0.532	1.021	1.069	1.023
9	0.094	0.099	0.088	0.572	0.461	0.471	1.042	0.943	1.042
10	0.101	0.121	0.098	0.458	0.523	0.531	0.968	1.022	0.972
TB	0.0972	0.0984	0.0985	0.5017	0.4955	0.5136	1.0037	1.0024	0.9984
Sr_i	0.0102	0.0165	0.0111	0.0565	0.0330	0.0436	0.0524	0.0583	0.0381
S_r	0.0129			0.0454			0.0503		
X_{tb}	0.098			0.504			1.002		
S_{Xtb}	0.0023			0.0291			0.0087		
n_{TB}	10			10			10		
S_L	0.0040			0.0110			0.0157		
S_{Rw}	0.0135			0.0467			0.0527		
RSD_{Rw}	13.8			9.3			5.3		

Ngày	Nước mặt								
	Nồng độ 0.1 mg/L			Nồng độ 0.5 mg/L			Nồng độ 1.0 mg/L		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
$PRSD_{Rw}$	22.6			17.8			16.0		

Bảng 3.5. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước biển

Ngày	Nước biển								
	Nồng độ 0.050 mg/L			Nồng độ 0.500 mg/L			Nồng độ 1.000 mg/L		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
1	0.089	0.099	0.094	0.469	0.521	0.531	1.011	0.948	1.044
2	0.121	0.104	0.112	0.538	0.544	0.499	0.948	0.958	1.029
3	0.079	0.084	0.089	0.442	0.487	0.479	1.054	1.052	0.958
4	0.085	0.118	0.078	0.549	0.529	0.501	0.949	1.102	0.996
5	0.108	0.093	0.092	0.429	0.445	0.521	1.033	1.047	1.005
6	0.083	0.121	0.099	0.459	0.519	0.541	0.948	0.958	1.021
7	0.113	0.085	0.102	0.511	0.472	0.538	0.962	1.039	0.958
8	0.079	0.113	0.077	0.583	0.439	0.474	1.051	1.065	1.047
9	0.103	0.089	0.085	0.539	0.502	0.522	1.044	0.968	1.028
10	0.089	0.091	0.094	0.522	0.522	0.559	0.948	1.032	0.954
TB	0.0949	0.0997	0.0922	0.5041	0.498	0.5165	0.9948	1.0169	1.004
Sr_i	0.0151	0.0137	0.0107	0.0514	0.0361	0.0277	0.0478	0.0542	0.0361
S_r	0.0133			0.0396			0.0467		
X_{tb}	0.096			0.506			1.005		
S_{Xtb}	0.0120			0.0298			0.0351		
n_{TB}	10			10			10		
S_L	0.0018			0.0082			0.0097		
S_{Rw}	0.0134			0.0405			0.0477		
RSD_{Rw}	14.0			8.1			4.8		
$PRSD_{Rw}$	22.6			17.8			16.0		

Bảng 3.6. Kết quả đánh giá độ tái lặp PTN đối với nền mẫu nước ngầm

Ngày	**Nước ngầm**								
	Nồng độ 0.5 mg/L			Nồng độ 2.5 mg/L			Nồng độ 5.0 mg/L		
	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3	Mẫu 1	Mẫu 2	Mẫu 3
1	0.449	0.477	0.488	2.445	2.492	2.449	4.553	4.994	4.982
2	0.512	0.519	0.541	2.496	2.419	2.593	5.009	4.962	5.044
3	0.495	0.492	0.523	2.54	2.422	2.414	5.105	5.057	5.019
4	0.533	0.503	0.515	2.582	2.542	2.579	4.905	5.114	5.113
5	0.549	0.533	0.492	2.599	2.553	2.442	4.952	5.094	4.951
6	0.429	0.498	0.488	2.459	2.492	2.462	4.962	4.892	5.034
7	0.41	0.572	0.573	2.452	2.563	2.582	5.064	4.973	4.921
8	0.477	0.546	0.484	2.483	2.596	2.508	4.997	5.073	4.892
9	0.506	0.499	0.470	2.539	2.551	2.432	5.047	5.089	5.104
10	0.539	0.569	0.509	2.449	2.505	2.414	4.924	4.932	4.955
TB	0.4899	0.5208	0.5083	2.5044	2.5135	2.4875	4.9518	5.018	5.0015
Sr_i	0.0477	0.0330	0.0310	0.0571	0.0590	0.0722	0.1537	0.0772	0.0743
S_r	0.0380			0.0631			0.1082		
X_{tb}	0.506			2.502			4.990		
S_{Xtb}	0.0492			0.0417			0.1090		
n_{TB}	10			10			10		
S_L	0.0099			0.0150			0.0042		
S_{Rw}	0.0392			0.0649			0.1082		
RSD_{Rw}	7.8			2.6			2.2		
$PRSD_{Rw}$	17.8			13.9			12.6		

➢ Kết quả thực nghiệm cho thấy độ tái lặp PTN của phép thử hoàn toàn phù hợp với yêu cầu ($RSD_{Rw} < PRSD_{Rw}$).

➢ **Qua tính toán độ lặp lại và độ tái lặp PTN, có thể kết luận độ chụm của phép đo phù hợp với yêu cầu của phương pháp.**

3.2. ĐÁNH GIÁ ĐỘ ĐÚNG CỦA PHƯƠNG PHÁP

Để đánh giá độ đúng của phương pháp, tiến hành đánh giá hiệu suất thu hồi của phương pháp.

Để đánh giá hiệu suất thu hồi, sử dụng nền mẫu là các mẫu thực được lấy tại hiện trường (nước thải, nước mặt, nước biển, nước ngầm), đây chính là các mẫu được sử dụng để đánh giá độ chụm của phương pháp. Tiến hành thêm chuẩn từ dung dịch chuẩn gốc và phân tích các mẫu để xác định độ thu hồi của phương pháp.

Kết quả xác định độ thu hồi của phép thử được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.7. Kết quả đánh giá độ thu hồi nguyên tố Cu trong nền mẫu nước thải và nước mặt

Stt	**Nước thải**					**Nước mặt**				
	A *mg/L*	F *mg/L*	I *mg/L*	(F – I) *mg/L*	H *%*	A *mg/L*	F *mg/L*	I *mg/L*	(F – I) *mg/L*	H *%*
1	2.000	4.289	2.119	2.170	108.5	0.500	0.604	0.162	0.442	88.4
2	2.000	4.319	2.571	1.748	87.4	0.500	0.609	0.104	0.505	101.0
3	2.000	4.384	2.163	2.221	111.1	0.500	0.598	0.138	0.460	92.0
4	2.000	4.357	2.389	1.968	98.4	0.500	0.594	0.044	0.550	110.0
5	2.000	4.328	2.438	1.890	94.5	0.500	0.589	0.129	0.460	92.0
6	2.000	4.362	2.195	2.167	108.4	0.500	0.598	0.146	0.452	90.4
7	2.000	4.367	2.412	1.955	97.8	0.500	0.602	0.121	0.481	96.2
8	2.000	4.318	2.279	2.039	102.0	0.500	0.601	0.089	0.512	102.4
9	2.000	4.367	2.401	1.966	98.3	0.500	0.605	0.138	0.467	93.4
10	2.000	4.387	2.122	2.265	113.3	0.500	0.592	0.059	0.533	106.6
H yêu cầu: 85 – 115%						**H yêu cầu: 85 – 115%**				

Bảng 3.8. Kết quả đánh giá độ thu hồi nguyên tố Cu trong nền mẫu nước biển và nước ngầm

Stt	**Nước biển**					**Nước ngầm**				
	A *mg/L*	F *mg/L*	I *mg/L*	(F – I) *mg/L*	H *%*	A *mg/L*	F *mg/L*	I *mg/L*	(F – I) *mg/L*	H *%*
1	0.500	0.618	0.182	0.436	87.2	0.500	0.698	0.218	0.480	96.0

Stt	Nước biển					Nước ngầm				
	A *mg/L*	F *mg/L*	I *mg/L*	(F – I) *mg/L*	H *%*	A *mg/L*	F *mg/L*	I *mg/L*	(F – I) *mg/L*	H *%*
2	0.500	0.632	0.106	0.526	105.2	0.500	0.705	0.183	0.522	104.4
3	0.500	0.618	0.122	0.496	99.2	0.500	0.701	0.256	0.445	89.0
4	0.500	0.622	0.164	0.458	91.6	0.500	0.729	0.164	0.565	113.0
5	0.500	0.638	0.119	0.519	103.8	0.500	0.713	0.238	0.475	95.0
6	0.500	0.641	0.073	0.568	113.6	0.500	0.732	0.205	0.527	105.4
7	0.500	0.636	0.146	0.490	98.0	0.500	0.712	0.231	0.481	96.2
8	0.500	0.644	0.169	0.475	95.0	0.500	0.702	0.271	0.431	86.2
9	0.500	0.653	0.122	0.531	106.2	0.500	0.699	0.179	0.520	104.0
10	0.500	0.639	0.165	0.474	94.8	0.500	0.711	0.199	0.512	102.4
H yêu cầu: 85 – 115%						**H yêu cầu: 85 – 115%**				

➢ Kết quả thực nghiệm cho thấy độ thu hồi của phép thử đối với tất cả 4 nền mẫu hoàn toàn phù hợp với yêu cầu của phương pháp.

➢ Qua tính toán độ thu hồi của mỗi phép thử, có thể kết luận độ đúng của phép đo phù hợp với yêu cầu của phương pháp.

3.3. GIỚI HẠN PHÁT HIỆN VÀ GIỚI HẠN ĐỊNH LƯỢNG CỦA PHƯƠNG PHÁP

Kết quả đo đạc và tính toán giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.9. Kết quả xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

	Kết quả đo mẫu trắng đối với từng nền mẫu giả do PTN chế tạo (mg/L)			
	Nước thải	Nước mặt	Nước biển	Nước ngầm
Nồng độ thêm chuẩn (mg/L)	0.02	0.02	0.02	0.02
Lần 1	0.0191	0.0158	0.0094	0.0176
Lần 2	0.0292	0.0218	0.0205	0.0136
Lần 3	0.0119	0.0283	0.0283	0.0195

	Kết quả đo mẫu trắng đối với từng nền mẫu giả do PTN chế tạo (mg/L)			
	Nước thải	Nước mặt	Nước biển	Nước ngầm
Lần 4	0.0305	0.0144	0.0195	0.0231
Lần 5	0.0183	0.0197	0.0313	0.0189
Lần 6	0.0194	0.0226	0.0202	0.0204
Lần 7	0.0307	0.0189	0.0194	0.0192
Lần 8	0.0312	0.0185	0.0202	0.0296
Lần 9	0.0183	0.0303	0.0173	0.0283
Lần 10	0.0198	0.0276	0.0286	0.0279
C_{TB}	0.0228	0.02179	0.02147	0.02181
s_r	0.0069	0.0054	0.0064	0.0053
%H	114.2	108.95	107.35	109.05
LOD (mg/L)	0.019	0.015	0.018	0.015
LOQ (mg/L)	0.069	0.054	0.064	0.053
C_{spike} < 10*LOD	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
C_{spike} > LOD	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
S/N > 2.5	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
S/N < 10	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
%H > 85	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt
%H < 115	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt

➢ Để đảm bảo tính chính xác của kết quả phân tích, phương pháp chỉ áp dụng đối với các nền mẫu có hàm lượng Cu lớn hơn hoặc bằng giới hạn định lượng của phương pháp tương ứng với nền mẫu đó.

3.4. ƯỚC LƯỢNG ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO CỦA PHƯƠNG PHÁP

3.4.1. Nguồn độ KĐBĐ

Độ KĐBĐ của kết quả xác định hàm lượng Cu trong mẫu nước môi trường được tính toán thông qua quy tắc lan truyền sai số.

Theo tiến trình thực hiện phép thử, nguồn độ KĐBĐ của quy trình xác định bao gồm các yếu tố sau:

- $u(C_{lv})$: Độ KĐBĐ của dung dịch chuẩn làm việc (dùng để dựng đường chuẩn).

- $u(C_{Cu})$: Độ KĐBĐ của hàm lượng Cu trong mẫu tính từ đường chuẩn.
- u_r: Độ KĐBĐ của độ lặp lại của kết quả phân tích (độ chụm).
- u_H: Độ KĐBĐ của độ thu hồi của phương pháp (độ đúng).

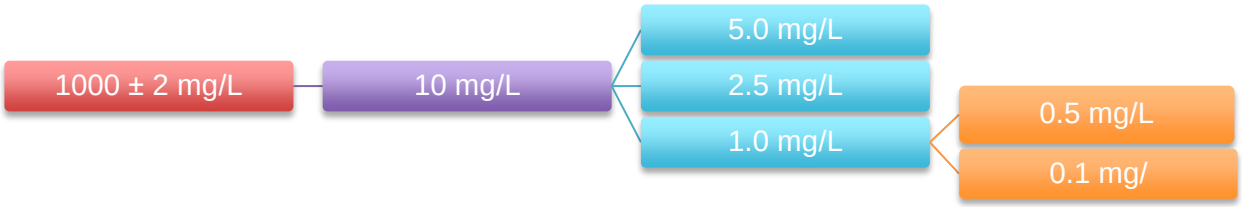
Khi đó, độ không đảm bảo đo tổng hợp được tính theo công thức:

$$u = C_{Co} \times \sqrt{\sum \left(\frac{u_{C_{lv}}}{C_{lv}}\right)^2 + \left(\frac{u_{C_{Cu}}}{C_{Cu}}\right)^2 + \left(\frac{u_r}{C_{Cu}}\right)^2 + \left(\frac{u_H}{H}\right)^2}$$

3.4.2. Định lượng các nguồn độ KĐBĐ thành phần

3.4.2.1. Độ KĐBĐ của các dung dịch chuẩn làm việc

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ 0.1 mg/L; 0.5 mg/L; 1 mg/L; 2.5 mg/L; 5 mg/L từ dung dịch chất chuẩn gốc có nồng độ Cu là 1000 ± 2 mg/L để xây dựng đường chuẩn theo các bước sau:



1000 mg/L — *(Pha loãng 100 lần)* — 10 mg/L
- MiCuopipet 1000 uL (lấy 500 uL)
- Bình định mức 50 mL

10 mg/L — *(Pha loãng 2 lần)* — 5.0 mg/L
- Pipet 25mL (lấy 25 mL)
- Bình định mức 50mL

10 mg/L — *(Pha loãng 4 lần)* — 2.5 mg/L
- Pipet 25mL (lấy 25 mL)
- Bình định mức 100mL

10 mg/L — *(Pha loãng 10 lần)* — 1.0 mg/L
- Pipet 5mL (lấy 5 mL)
- Bình định mức 50mL

1.0 mg/L — *(Pha loãng 2 lần)* — 0.5 mg/L
- Pipet 25mL (lấy 25 mL)
- Bình định mức 50mL

1.0 mg/L — *(Pha loãng 10 lần)* — 0.1 mg/L
- Pipet 5mL (lấy 5 mL)
- Bình định mức 50mL

Nguồn độ KĐBĐ cho việc pha từng dung dịch chuẩn được tổng hợp trong bảng sau:

0.050 mg/L	0.500 mg/L	1.000 mg/L	2.500 mg/L	5.000 mg/L	10.00 mg/L
➢ u_{Cu-1} ➢ u_{pp5} ➢ $u_{bđm100}$	➢ u_{Cu-1} ➢ u_{pp25} ➢ $u_{bđm50}$	➢ u_{Cu-10} ➢ u_{pp5} ➢ $u_{bđm50}$	➢ u_{Cu-10} ➢ u_{pp25} ➢ $u_{bđm100}$	➢ u_{Cu-10} ➢ u_{pp25} ➢ $u_{bđm50}$	➢ $u_{Cu-1000}$ ➢ u_{mpp} ➢ $u_{bđm50}$

❖ Dung dịch chuẩn gốc nồng độ 1000 ± 2 mgCu/L, ĐKĐB của thành phần này là:

$$u_{Cu-1000} = \frac{2}{\sqrt{3}} = 1.155 \text{ (mg/L)}$$

❖ Micropipet 1000µl, các yếu tố ảnh hưởng: sai số của micropipet, độ lặp lại (thao tác lấy mẫu).

- Sai số của micropipet do nhà sản xuất cung cấp là 1µL. Độ KĐB của thành phần này là:

$$u_1 = \frac{1}{\sqrt{3}} = 0.58 \text{ (uL)} = 0.00058 \text{ (mL)}$$

- Độ lặp lại: được xác định bằng cách cân 10 lần các thể tích nước (nhiệt độ của nước ở 25°C, khối lượng riêng d = 0.997043 g/mL) từ vạch 500µl của micropipet ($m_1,\ldots,m_{10}$). Độ không đảm bảo do thành phần này là:

$$u_2 = \text{stdev}(v_1,\ldots,v_{10}). \text{ Với } v_i = \frac{m_i}{d}.$$

Tính được u_2 = 0.0031 (mL)

Như vậy, $u_{mpp} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} = \sqrt{0.00058^2 + 0.0031^2} = 0.0031$ (mL)

❖ Pipet thẳng 5mL, các yếu tố ảnh hưởng: sai số của pipet, độ lặp lại (thao tác lấy mẫu).

- Sai số của pipet do nhà sản xuất cung cấp là 0.03mL. Độ KĐB của thành phần này là:

$$u_1 = \frac{0.03}{\sqrt{3}} = 0.017 \text{ (mL)}$$

- Độ lặp lại: được xác định bằng cách cân 10 lần các thể tích nước (nhiệt độ của nước ở 25°C, khối lượng riêng d = 0.997043 g/mL) từ vạch 5mL của pipet ($m_1,\ldots,m_{10}$). Độ không đảm bảo do thành phần này là:

$$u_2 = \text{stdev}(v_1,\ldots,v_{10}). \text{ Với } v_i = \frac{m_i}{d}.$$

Tính được u_2 = 0.025 (mL)

Như vậy, $u_{pp5} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} = \sqrt{0.017^2 + 0.025^2} = 0.030$ (mL)

❖ Pipet bầu 25mL, các yếu tố ảnh hưởng: sai số của pipet, độ lặp lại (thao tác lấy mẫu).

- Sai số của pipet do nhà sản xuất cung cấp là 0.2mL. Độ KĐB của thành phần này là:

$$u_1 = \frac{0.2}{\sqrt{3}} = 0.12\,(\text{mL})$$

- Độ lặp lại: được xác định bằng cách cân 10 lần các thể tích nước (nhiệt độ của nước ở 25°C, khối lượng riêng d = 0.997043 g/mL) từ vạch 25mL của pipet ($m_1,\ldots,m_{10}$). Độ không đảm bảo do thành phần này là:

$$u_2 = \text{stdev}(v_1,\ldots,v_{10}).\ \text{Với}\ v_i = \frac{m_i}{d}.$$

Tính được u_2 = 0.023 (mL)

Như vậy, $u_{pp25} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} = \sqrt{0.012^2 + 0.023^2} = 0.12$ (mL)

❖ Bình định mức 50mL, các yếu tố ảnh hưởng: sai số của bình định mức, độ lặp lại (thao tác lấy mẫu).

- Sai số của bình định mức do nhà sản xuất cung cấp là 0.06mL. Độ KĐB của thành phần này là:

$$u_1 = \frac{0.06}{\sqrt{3}} = 0.035\,(\text{mL})$$

- Độ lặp lại: được xác định bằng cách cân 10 lần các thể tích nước (nhiệt độ của nước ở 25°C, khối lượng riêng d = 0.997043 g/mL) từ vạch 50mLcủa bình định mức ($m_1,\ldots,m_{10}$). Độ không đảm bảo do thành phần này là:

$$u_2 = \text{stdev}(v_1,\ldots,v_{10}).\ \text{Với}\ v_i = \frac{m_i}{d}.$$

Tính được u_2 = 0.0081 (mL)

Như vậy, $u_{pp25} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} = \sqrt{0.035^2 + 0.0081^2} = 0.036$ (mL)

❖ Bình định mức 100mL, các yếu tố ảnh hưởng: sai số của bình định mức, độ lặp lại (thao tác lấy mẫu).

- Sai số của bình định mức do nhà sản xuất cung cấp là 0.1mL. Độ KĐB của thành phần này là:

$$u_1 = \frac{0.1}{\sqrt{3}} = 0.058\,(\text{mL})$$

- Độ lặp lại: được xác định bằng cách cân 10 lần các thể tích nước (nhiệt độ của nước ở 25°C, khối lượng riêng d = 0.997043 g/mL) từ vạch 50mLcủa bình định mức ($m_1,\ldots,m_{10}$). Độ không đảm bảo do thành phần này là:

$$u_2 = \text{stdev}(v_1,\ldots,v_{10}).\ \text{Với}\ v_i = \frac{m_i}{d}.$$

Tính được u_2 = 0.068 (mL)

Như vậy, $u_{bdm100} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2} = \sqrt{0.058^2 + 0.036^2} = 0.068$ (mL)

➔ ĐKĐB tổng hợp của cácc dung dịch chuẩn làm việc như sau:

Dung dịch chuẩn Cu 10 mg/L:

$$u_{Cu\text{-}10} = 10 \times \sqrt{\left(\frac{u_{dd1000}}{1000}\right)^2 + \left(\frac{u_{mpp}}{0.5}\right)^2 + \left(\frac{u_{bdm50}}{50}\right)^2}$$

$$= 10 \times \sqrt{\left(\frac{1.155}{1000}\right)^2 + \left(\frac{0.0031}{0.5}\right)^2 + \left(\frac{0.036}{50}\right)^2}$$

= 0.064 (mg/L)

→ Dung dịch chuẩn nồng độ 10 ± 0.063 mgCu/L

Dung dịch chuẩn Cu 5 mg/L:

$$u_{Cu\text{-}5} = 5 \times \sqrt{\left(\frac{u_{dd10}}{10}\right)^2 + \left(\frac{u_{pp25}}{25}\right)^2 + \left(\frac{u_{bdm50}}{50}\right)^2}$$

$$= 5 \times \sqrt{\left(\frac{0.064}{10}\right)^2 + \left(\frac{0.12}{25}\right)^2 + \left(\frac{0.036}{50}\right)^2}$$

= 0.040 (mg/L)

→ Dung dịch chuẩn nồng độ 5 ± 0.039 mgCu/L

Dung dịch chuẩn Cu 2.5 mg/L:

$$u_{Cu\text{-}2.5} = 2.5 \times \sqrt{\left(\frac{u_{dd10}}{10}\right)^2 + \left(\frac{u_{pp25}}{25}\right)^2 + \left(\frac{u_{bdm100}}{100}\right)^2}$$

$$= 2.5 \times \sqrt{\left(\frac{0.064}{10}\right)^2 + \left(\frac{0.12}{25}\right)^2 + \left(\frac{0.068}{100}\right)^2}$$

= 0.020 (mg/L)

→ Dung dịch chuẩn nồng độ 2.5 ± 0.020 mgCu/L

Dung dịch chuẩn Cu 1.0 mg/L:

$$u_{Cu\text{-}1} = 1.0 \times \sqrt{\left(\frac{u_{dd10}}{10}\right)^2 + \left(\frac{u_{pp5}}{5}\right)^2 + \left(\frac{u_{bdm50}}{50}\right)^2}$$

$$= 1.0 \times \sqrt{\left(\frac{0.064}{10}\right)^2 + \left(\frac{0.030}{5}\right)^2 + \left(\frac{0.036}{50}\right)^2}$$

$$= 0.0089 \text{ (mg/L)}$$

→ Dung dịch chuẩn nồng độ 1 ± 0.0088 mgCu/L

Dung dịch chuẩn Cu 0.5 mg/L:

$$u_{Cu\text{-}0.5} = 0.5 \times \sqrt{\left(\frac{u_{dd1}}{1}\right)^2 + \left(\frac{u_{pp25}}{25}\right)^2 + \left(\frac{u_{bdm50}}{50}\right)^2}$$

$$= 0.5 \times \sqrt{\left(\frac{0.0089}{1}\right)^2 + \left(\frac{0.12}{25}\right)^2 + \left(\frac{0.036}{50}\right)^2}$$

$$= 0.0050 \text{ (mg/L)}$$

→ Dung dịch chuẩn nồng độ 0.5 ± 0.0050 mgCu/L

Dung dịch chuẩn Cu 0.1 mg/L:

$$u_{Cu\text{-}0.5} = 0.1 \times \sqrt{\left(\frac{u_{dd1}}{1}\right)^2 + \left(\frac{u_{pp5}}{5}\right)^2 + \left(\frac{u_{bdm50}}{50}\right)^2}$$

$$= 0.1 \times \sqrt{\left(\frac{0.0089}{1}\right)^2 + \left(\frac{0.030}{5}\right)^2 + \left(\frac{0.036}{50}\right)^2}$$

$$= 0.0011 \text{ (mg/L)}$$

→ Dung dịch chuẩn nồng độ 0.1 ± 0.0011 mgCu/L

3.4.2.2. Độ KĐBĐ của nồng độ mẫu tính từ đường chuẩn

Xây dựng phương trình đường chuẩn có dạng y = a + b.x với y là giá trị độ hấp thụ của dung dịch chuẩn (Abs) và x là nồng độ của các dung dịch chuẩn (mg/L).

Tính toán sai số dư $S_{y/x}$ của phương trình y = a + bx theo công thức:

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

Với: y_i là độ hấp thụ của dung dịch chuẩn đo trực tiếp trên thiết bị,

$\hat{y}_i$ là giá trị độ hấp thụ tính lại trên đường chuẩn ứng với nồng độ x_i.

n là số điểm trên đường chuẩn.

Khi đó tính được:

$$u_{C_{Cu}} = \frac{S_{y/x}}{b} \times \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(\overline{y_0} - \overline{y})^2}{b^2 \times \sum_{i=1}^{n} (x_i - \overline{x})^2}}$$

Vớ: $\overline{y_0}$ là tín hiệu đo trung bình của mẫu thực;

$\overline{y}$ là tín hiệu đo trung bình của các dung dịch chuẩn.

x_i là nồng độ của từng dung dịch chuẩn.

$\overline{x}$ là nồng độ trung bình của các dung dịch chuẩn.

n là số điểm trên đường chuẩn.

m là số lần đo mẫu thực.

Đối với nền mẫu nước thải và nước ngầm

Kết quả đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn làm việc như sau:

	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
Nồng độ (mg/L)	0	0.1	0.5	1.0	2.5	5
Độ hấp thụ (Abs)	0.0002	0.0055	0.0277	0.0549	0.1368	0.2735

Từ đó tính được: $S_{y/x}$ = 0.000123

Đối với mỗi nền mẫu, chuẩn bị mẫu thực ở 3 mức nồng độ trong dải làm việc: ~0.5 mg/L; ~2.5 mg/L; ~5.0 mg/L. Mỗi mẫu đo lặp 3 lần → Tính $u_{(0.5)}$; $u_{(2.5)}$; $u_{(5.0)}$.

Kết quả đo đạc và tính toán độ KĐBĐ của từng nền mẫu ở các nồng độ khác nhau được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.10. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ tính từ đường chuẩn đối với nền mẫu nước thải và nước ngầm

STT	NƯỚC THẢI			NƯỚC NGẦM		
	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~2.5mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~5.0mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~2.5mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~5.0mg/L
1	0.0269	0.1359	0.2709	0.0271	0.1355	0.2721
2	0.0271	0.1361	0.2711	0.0267	0.1359	0.2714
3	0.0274	0.1357	0.2721	0.0263	0.1362	0.2719
$u_{C_{Cu}}$	0.010	0.009	0.033	0.010	0.009	0.033

Đối với nền mẫu nước mặt, nước biển

Kết quả đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn làm việc như sau:

	C_1	C_2	C_3	C_4
Nồng độ (mg/L)	0	0.1	0.5	1.0
Độ hấp thụ (Abs)	0.0002	0.0055	0.0277	0.0549

Từ đó tính được: $S_{y/x}$ = 0.000149

Đối với mỗi nền mẫu, chuẩn bị mẫu thực ở 3 mức nồng độ trong dải làm việc: ~0.1 mg/L; ~0.5 mg/L; ~1.0 mg/L. Mỗi mẫu đo lặp 3 lần → Tính $u_{(0.1)}$; $u_{(0.5)}$; $u_{(1.0)}$.

Kết quả đo đạc và tính toán độ KĐBĐ của nền mẫu nước mặt và nước biển ở các nồng độ khác nhau được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.11. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ tính từ đường chuẩn đối với nền mẫu nước mặt và nước biển

STT	NƯỚC MẶT			NƯỚC BIỂN		
	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~0.1mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~1.0mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~0.1mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Độ hấp thụ của mẫu thực ở nồng độ ~1.0mg/L
1	0.0054	0.0273	0.0538	0.0053	0.0274	0.0542
2	0.0053	0.0268	0.0535	0.0051	0.0271	0.0538
3	0.0051	0.0264	0.0537	0.0052	0.0273	0.0539
$u_{C_{Cu}}$	0.019	0.0058	0.036	0.019	0.0063	0.037

3.4.2.3. Độ KĐBĐ của độ lặp lại

Thực hiện phân tích lặp lại mẫu 3 lần, tính toán độ lặp lại S_r = stdev(x_1, x_2, x_3). Từ đó, tính được độ KĐBĐ của độ lặp lại theo công thức:

$$u_r = \frac{S_r}{\sqrt{n}}$$

Với n là số lần đo lặp lại mẫu (n = 3).

Kết quả tính toán độ KĐBĐ của độ lặp lại (u_r, mg/L) được thể hiện trong các bảng sau:

Bảng 3.12. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ của độ lặp lại

STT	NƯỚC THẢI			NƯỚC NGẦM		
	Mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~2.5mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~5.0mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~2.5mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~5.0mg/L
1	0.488	2.483	4.952	0.492	2.475	4.974
2	0.492	2.486	4.956	0.485	2.483	4.962
3	0.498	2.479	4.974	0.478	2.488	4.971
u_r	0.00266	0.0021	0.0068	0.00423	0.0037	0.0038
STT	NƯỚC MẶT			NƯỚC BIỂN		
	Mẫu thực ở nồng độ ~0.1mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~1.0mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~0.1mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~0.5mg/L	Mẫu thực ở nồng độ ~1.0mg/L
1	0.0958	0.4953	0.9788	0.0939	0.4972	0.9861
2	0.0939	0.4862	0.9734	0.0903	0.4917	0.9788
3	0.0903	0.4789	0.9770	0.0921	0.4953	0.9807
u_r	0.00161	0.00475	0.00161	0.00105	0.00161	0.0022

3.4.2.4. Độ KĐBĐ của độ thu hồi

Đối với mỗi nền mẫu tại các mức nồng độ khác nhau, thực hiện thêm chuẩn để xác định %thu hồi. Thực hiện phân tích lặp lại 3 lần đối với mỗi phép đo, tính toán độ thu hồi H theo công thức:

$$\mathrm{H}\ (\%) = \frac{\mathrm{F} - \mathrm{I}}{\mathrm{A}} \times 100\%$$

Trong đó:

F là nồng độ tổng của mẫu đã thêm chuẩn;

I là nồng độ của mẫu nền;

(F – I) là nồng độ thêm tính được;

A là nồng độ chuẩn thêm vào tính toán trên lý thuyết.

Khi đó, tính toán được độ KĐBĐ của độ thu hồi theo công thức:

$$u_H = H' \sqrt{\left(\frac{s_F^2 + s_I^2}{n' (\overline{F} - \overline{I})}\right)^2 + \left(\frac{u_A}{A}\right)^2}$$

Các nồng độ chuẩn thêm vào từng mẫu được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.13. Chuẩn bị mẫu khảo sát độ KĐBĐ của độ thu hồi

Mẫu thử	Dùng pipet loại (mL)	Để lấy thể tích (mL)	Dung dịch chuẩn nồng độ (mg/L)	Cho vào bình định mức loại (mL)	Pha loãng (nếu có)		A
					Dùng pipet lấy (mL)	Cho vào bđm loại (mL)	
Nước thải	1	1	10	50	-	-	0.2
Nước thải	5	5	10	50	-	-	1
Nước thải	25	25	10	50	25	50	2.5
Nước mặt	1	1	10	50	-	-	0.2
Nước mặt	5	5	10	50	-	-	1
Nước mặt	25	25	10	50	25	50	2.5
Nước biển	1	0.5	10	50	-	-	0.1
Nước biển	1	1	10	50	-	-	0.2
Nước biển	5	5	10	50	25	50	1
Nước ngầm	1	0.5	10	50	-	-	0.1
Nước ngầm	1	1	10	50	-	-	0.2
Nước ngầm	5	5	10	50	25	50	1

Kết quả phân tích mẫu và tính toán u_H được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.14. Kết quả khảo sát độ KĐBĐ của độ thu hồi

NƯỚC THẢI	Nồng độ ~ 0.5 (mg/L)				Nồng độ ~ 2.5 (mg/L)				Nồng độ ~ 5.0 (mg/L)			
	A (mg/L)	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*
Lần 1	0.2	0.649	0.458	0.955	1	3.279	2.301	0.978	2.5	6.042	3.588	0.982
Lần 2	0.2	0.654	0.462	0.960	1	3.267	2.324	0.943	2.5	6.028	3.564	0.986
Lần 3	0.2	0.651	0.460	0.955	1	3.266	2.317	0.949	2.5	5.998	3.576	0.969
TB	0.2	0.6513	0.4600	0.957	1	3.2707	2.314	0.957	2.5	6.0227	3.5760	0.979
u_H	**0.044**				**0.012**				**0.010**			

NƯỚC NGẦM	Nồng độ ~ 0.5 (mg/L)				Nồng độ ~ 2.5 (mg/L)				Nồng độ ~ 5.0 (mg/L)			
	A (mg/L)	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*
Lần 1	0.2	0.662	0.478	0.920	1	3.427	2.468	0.959	2.5	6.298	3.858	0.976
Lần 2	0.2	0.673	0.484	0.945	1	3.419	2.452	0.967	2.5	6.306	3.874	0.973
Lần 3	0.2	0.679	0.489	0.950	1	3.422	2.471	0.951	2.5	6.318	3.886	0.973
TB	0.2	0.6713	0.4837	0.938	1	3.4227	2.4637	0.959	2.5	6.3073	3.8727	0.974
u_H	**0.044**				**0.011**				**0.008**			
NƯỚC MẶT	Nồng độ ~ 0.1 (mg/L)				Nồng độ ~ 0.5 (mg/L)				Nồng độ ~ 1.0 (mg/L)			
	A (mg/L)	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*
Lần 1	0.1	0.189	0.094	0.95	0.2	0.667	0.477	0.95	1	1.922	0.938	0.984
Lần 2	0.1	0.193	0.097	0.96	0.2	0.674	0.482	0.96	1	1.934	0.943	0.991
Lần 3	0.1	0.191	0.096	0.95	0.2	0.671	0.482	0.945	1	1.928	0.948	0.980
TB	0.1	0.1910	0.0957	0.953	0.2	0.6707	0.4803	0.952	1	1.9280	0.9430	0.985
u_H	**0.086**				**0.035**				**0.011**			
NƯỚC BIỂN	Nồng độ ~ 0.1 (mg/L)				Nồng độ ~ 0.5 (mg/L)				Nồng độ ~ 1.0 (mg/L)			
	A (mg/L)	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*	*A (mg/L)*	*F (mg/L)*	*I (mg/L)*	*H*
Lần 1	0.1	0.189	0.094	0.95	0.2	0.682	0.494	0.94	1	1.954	0.968	0.986
Lần 2	0.1	0.189	0.094	0.95	0.2	0.682	0.489	0.965	1	1.948	0.974	0.974
Lần 3	0.1	0.193	0.098	0.95	0.2	0.687	0.494	0.965	1	1.950	0.972	0.978
TB	0.1	0.1903	0.0953	0.950	0.2	0.6837	0.4923	0.957	1	1.9507	0.9713	0.979
u_H	**0.086**				**0.035**				**0.011**			

3.4.3. Độ KĐBĐ tổng hợp

Kết quả ước lượng độ không đảm bảo đo tổng hợp và độ KĐBĐ mở rộng được thể hiện trong bảng sau:

Bảng 3.15. Kết quả tính toán độ KĐBĐ tổng hợp và độ KĐBĐ mở rộng

LOẠI MẪU	NỒNG ĐỘ (mg/L)	ĐỘ KĐBĐ THÀNH PHẦN				Độ KĐBĐ tổng hợp	Độ KĐBĐ mở rộng (k = 2; P = 95%)
		å $(\frac{u_{C_{lv}}}{C_{lv}})^2$	$(\frac{u_{C_{Cu}}}{C_{Cu}})^2$	$(\frac{u_r}{C_{Cu}})^2$	$(\frac{u_H}{H})^2$		
Nước thải	0.493	0.00058	0.00040	0.0000	0.0021	0.028	0.056
	2.483	0.00058	0.00001	0.00000	0.0002	0.069	0.138
	4.961	0.00058	0.00004	0.000002	0.00010	0.135	0.270
Nước mặt	0.093	0.00041	0.04323	0.0003	0.0081	0.022	0.044
	0.487	0.00041	0.00014	0.00010	0.0014	0.022	0.044
	0.976	0.00041	0.00138	0.00000	0.00012	0.043	0.086
Nước biển	0.092	0.00041	0.04473	0.00013	0.0082	0.022	0.044
	0.495	0.00041	0.00016	0.00001	0.0013	0.022	0.044
	0.982	0.00041	0.00139	0.00000	0.00013	0.044	0.088
Nước ngầm	0.485	0.00058	0.00042	0.0001	0.0022	0.028	0.056
	2.482	0.00058	0.00001	0.000002	0.00013	0.067	0.134
	4.969	0.00058	0.00004	0.000001	0.00007	0.131	0.262

3.5. KẾT LUẬN

Với các kết quả đánh giá về độ chụm, độ đúng của phương pháp và độ tuyến tính của đường chuẩn như tính toán ở trên, PTN hoàn toàn có đủ khả năng áp dụng SMEWW 3111 (B):2012 để xác định hàm lượng Cu trong mẫu nước môi trường.

KẾT LUẬN

Sau quá trình nghiên cứu và xây dựng quy trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp theo tiêu chuẩn GUM 1993, đề tài đã đạt được các kết quả chính như sau:

- Xây dựng được quy trình chung về xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp bao gồm các bước xác định thông số cần thẩm định bao gồm:
    - Độ lặp lại của phương pháp
    - Độ tái lặp trung gian
    - Độ thu hồi
    - Ước lượng độ KĐBĐ của từng nhóm thông số.
- Thiết kế thí nghiệm để xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp.
- Đưa ra được tiêu chí đánh giá từng thông số thẩm định phương pháp.
- Áp dụng quy trình tính toán để xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử xác định hàm lượng Đồng trong mẫu nước. Kết quả cho thấy việc các yêu cầu về độ chính xác, độ tin cậy của phương pháp đáp ứng được yêu cầu của phương pháp và thoả mãn các bộ tiêu chí về chất lượng.

DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Carlos Rivera, Rosario Rodrigez, *Horwitz equation as quality benchmark in ISO/IEC 17025 testing laboratory*, Bufete de ingerieros industriales, S.C., Pimentel 4104-B; Col. Las Granjas Chihuahua Mexico. C.P. 31160.

[2] PUBL-TS-056-96 - *Analytical detection limit guidance & Laboratory guide for determining Method Dection Limits*, Wilcosin Department of Natural Resources, Laboratory certification program, April 1996.

[3] Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM)