

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7082-2:2010

ISO 3890-2:2009

Xuất bản lần 2

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG
HỢP CHẤT CLO HỮU CƠ (THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT) –
PHẦN 2: PHƯƠNG PHÁP TINH SẠCH DỊCH CHIẾT THÔ
VÀ KHẲNG ĐỊNH**

*Milk and milk products – Determination of residues
of organochlorine compounds (pesticides) –*

Part 2: Test methods for crude extract purification and confirmation

HÀ NỘI – 2010

Lời nói đầu

TCVN 7082-2:2010 thay thế TCVN 7082-2:2002;

TCVN 7082-2:2010 hoàn toàn tương đương với ISO 3890-2:2009/IDF 75-2:2009;

TCVN 7082-2:2010 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F12 *Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN 7082 (ISO 3890) *Sữa và sản phẩm sữa – Xác định dư lượng hợp chất clo hữu cơ (thuốc bảo vệ thực vật)* bao gồm các phần sau:

- TCVN 7082-1:2010 (ISO 3890-1:2009), *Phần 1: Xem xét chung và phương pháp chiết;*
- TCVN 7082-2:2010 (ISO 3890-2:2009), *Phần 2: Phương pháp tinh sạch dịch chiết thô và khẳng định.*

**Sữa và sản phẩm sữa – Xác định dư lượng
hợp chất clo hữu cơ (thuốc bảo vệ thực vật) –
Phần 2: Phương pháp tinh sạch dịch chiết thô và khẳng định**

*Milk and milk products – Determination of residues of organochlorine compounds (pesticides) –
Part 2: Test methods for crude extract purification and confirmation*

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

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các phương pháp tinh sạch dịch chiết thô thu được bằng các phương pháp chung quy định trong TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Tiêu chuẩn này cũng đưa ra các phương pháp xác định dư lượng các hợp chất clo hữu cơ trong sữa và sản phẩm sữa cùng với các phép khẳng định và các qui trình làm sạch.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 7082-1 (ISO 3890-1), *Sữa và các sản phẩm sữa – Xác định dư lượng hợp chất clo hữu cơ (thuốc bảo vệ thực vật) – Phần 1: Xem xét chung và phương pháp chiết.*

3 Phương pháp A: Chiết phân đoạn lỏng-lỏng bằng axetonitril và tinh sạch trên cột Florisil¹⁾

3.1 Nguyên tắc

Xem Tài liệu tham khảo [3].

Các hợp chất clo hữu cơ cùng với chất béo được chiết ra khỏi mẫu thử bằng một trong các qui trình trong TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Dịch chiết được cô đến gần khô, sau đó hoà tan lại trong dầu nhẹ và các hợp chất clo hữu cơ được tách phân đoạn bằng axetonitril. Sau khi trộn axetonitril với một lượng nước dư, các hợp chất clo hữu cơ được tách phân đoạn trong dầu nhẹ. Pha hữu cơ này được tinh sạch bằng sắc ký trên cột Florisil¹⁾ (magie silicat tổng hợp) sử dụng hỗn hợp của dầu nhẹ và dietyl ete làm dung môi rửa giải. Chất rửa giải được cô đặc rồi được xác định bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

Đối với phomat có phương pháp qui định riêng.

3.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

3.2.1 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C.

Chưng cất trên các viên kali hydroxit hoặc natri hydroxit.

3.2.2 Axetonitril (CH₃CN), bão hoà với dầu nhẹ.

Để tinh sạch, trộn 4 l axetonitril với 1 ml axit octophosphoric và 30 g phospho pentoxit trong bình thủy tinh đáy tròn. Bổ sung các viên bi thủy tinh và chưng cất ở nhiệt độ từ 81 °C đến 82 °C. Không được để nhiệt độ vượt quá 82 °C.

Trộn axetonitril đã tinh sạch với dầu nhẹ cho đến khi bắt đầu xuất hiện tách pha.

3.2.3 Dietyl ete (C₂H₅OC₂H₅), không chứa peroxit.

Chưng cất và ổn định bằng etanol (C₂H₅OH) tuyệt đối 2,0 % phần thể tích.

3.2.4 Dung môi rửa giải A: hỗn hợp của dietyl ete (3.2.3) và dầu nhẹ (3.2.1) (6 + 94 phần thể tích).

Làm khô trên 10 g đến 25 g natri sulfat khan (3.2.6).

3.2.5 Dung môi rửa giải B: hỗn hợp của dietyl ete (3.2.3) và dầu nhẹ (3.2.1) (15 + 85 phần thể tích).

¹⁾ Florisil (ví dụ: của công ty Floridin) là một ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

Làm khô trên 10 g đến 25 g natri sulfat khan (3.2.6).

3.2.6 Natri sulfat (Na_2SO_4), khan, dạng hạt.

Nung ở nhiệt độ $500\text{ }^\circ\text{C} \pm 25\text{ }^\circ\text{C}$ trong 4 h. Để nguội và bảo quản trong chai đậy nắp.

3.2.7 Chất hấp phụ: Florisil¹⁾, cỡ từ 60 mesh đến 100 mesh.

Hoạt hóa bằng cách nung ở nhiệt độ $650\text{ }^\circ\text{C} \pm 25\text{ }^\circ\text{C}$ trong 4 h và rót ngay chất hấp phụ này vào các chai có nắp kín và bảo quản nơi tối. Trước khi sử dụng, sấy ở $130\text{ }^\circ\text{C}$ ít nhất trong 5 h.

Nên bảo quản chất hấp phụ này ở $130\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$ hoặc trong bình hút ẩm ở nhiệt độ phòng. Nếu bảo quản trong bình hút ẩm thì cứ 2 ngày lại sấy ở $130\text{ }^\circ\text{C} \pm 2\text{ }^\circ\text{C}$.

Thình thoảng kiểm tra từng mẻ chất hấp phụ như sau:

Cho 1 ml dung dịch có chứa các chuẩn trong *n*-hexan: 0,1 mg/l lindan, heptaclo epoxit, aldrin và dieldrin và 0,3 mg/l endrin đi qua cột hấp phụ [Xem 9.3 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1)]. Rửa giải và cô đặc như trong 3.4.3. Xác định bằng sắc ký khí.

Chất hấp phụ được coi là đáp ứng được các yêu cầu nếu lindan, heptaclo, aldrin và heptaclo epoxit được tìm thấy trong dung môi rửa giải A (3.2.4), dieldrin và endrin được tìm thấy trong dung môi rửa giải B (3.2.5).

3.2.8 Natri clorua (NaCl), dung dịch 2 % phần khối lượng.

Nung natri clorua dạng rắn ở $500\text{ }^\circ\text{C} \pm 25\text{ }^\circ\text{C}$ trong 4 h trước khi pha chế dung dịch.

3.2.9 Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), tuyệt đối.

3.2.10 Natri oxalat ($\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$) hoặc kali oxalat ($\text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$).

3.3 Thiết bị, dụng cụ

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

3.3.1 Cột sắc ký, có đường kính trong 20 mm và dài 300 mm, có van khoá bằng PTFE và các đĩa thuỷ tinh chịu nhiệt hoặc nút bông thuỷ tinh.

3.3.2 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²⁾ hoặc loại tương đương), có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với ống chia độ.

²⁾ Kuderna-Danish là một ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 7082-2:2010

3.3.3 Bộ trộn tốc độ cao.

3.3.4 Phễu chiết, dung tích 125 ml đến 1 000 ml.

3.4 Cách tiến hành

3.4.1 Chiết chất béo và các hợp chất clo hữu cơ

3.4.1.1 Phương pháp chung

Xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

3.4.1.2 Phương pháp riêng dành cho phomat

Cho đủ một lượng mẫu đã nghiền nhỏ (để có được 3 g chất béo), khoảng 2 g natri hoặc kali oxalat (3.2.10) và 100 ml etanol (3.2.9) vào bình trộn tốc độ cao (3.3.3) và trộn trong 2 min đến 3 min. (Theo kinh nghiệm, với sản phẩm khi trộn tạo nhũ tương nếu không phá được bằng ly tâm, thì trước khi trộn cứ 2 g mẫu cho thêm 1 ml nước). Rót dung dịch nhão đã đồng hoá vào bình ly tâm 500 ml, thêm 50 ml dietyl ete (3.2.3), rồi lắc mạnh trong 1 min. Thêm 50 ml dầu nhẹ (3.2.1) và lắc mạnh trong 1 min đến 2 min (hoặc chia thành hai bình 250 ml và chiết mỗi bình 25 ml dầu nhẹ bằng cách lắc mạnh trong 1 min đến 2 min). Tiến hành tiếp, theo A.6.3.3 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

3.4.2 Chiết phân đoạn lỏng-lỏng

Cân từ 1 g đến 3 g, chính xác đến 0,01 g, chất béo chiết được, cho vào phễu chiết 125 ml (3.3.4) và hoà tan trong 15 ml dầu nhẹ (3.2.1). Thêm 30 ml axetonitril đã bão hoà bằng dầu nhẹ (3.2.2) và lắc mạnh từ 1 min đến 2 min. Sau khi tách pha, cho lớp axetonitril phía dưới chảy sang phễu chiết 1 000 ml (3.3.4) chứa 700 ml dung dịch natri clorua (3.2.8) và 100 ml dầu nhẹ (3.2.1). Lắc mạnh lớp dầu nhẹ còn lại trong phễu chiết 125 ml ba lần, mỗi lần bằng 30 ml axetonitril (3.2.2).

Gộp các dịch chiết bằng axetonitril vào phễu chiết 1 000 ml rồi lắc cẩn thận. Tháo pha dưới, cho pha lỏng chảy vào phễu chiết 1 000 ml thứ hai và lắc trong 12 s với 100 ml dầu nhẹ. Gộp các pha của dầu nhẹ thu được từ hai phễu chiết 1 000 ml. Làm sạch hai lần mỗi lần bằng 100 ml nước hoặc dung dịch natri clorua (3.2.8). Làm khô trên natri sulfat (3.2.6) và lọc vào bình cô quay 500 ml (3.3.2) được gắn với ống chia độ. Rửa natri sulfat ba lần, mỗi lần bằng 10 ml dầu nhẹ (3.2.1). Sau đó, sử dụng bộ cô quay (3.3.2) để cô dung dịch dầu nhẹ đến 10 ml.

3.4.3 Tinh sạch trên Florisil¹⁾

Cho một lớp 100 mm chất hấp phụ (3.2.7) lên cột sắc ký (3.3.1). Phủ một lớp 10 mm natri sulfat (3.2.6) và tráng bằng 40 ml đến 50 ml dầu nhẹ (3.2.1). Dùng pipet lấy 10 ml dầu nhẹ đã cô (3.4.2) cho vào cột (3.3.1), tráng vật chứa hai lần, mỗi lần dùng khoảng 5 ml dầu nhẹ. Dùng 200 ml dung môi rửa giải A

(3.2.4) để rửa giải rồi cho vào bình cô quay (3.3.2) gắn với ống chia độ. Tốc độ rửa giải không nên vượt quá 5 ml/min. Tương tự, thay bình nhận và dùng 200 ml dung môi rửa giải B (3.2.5) để rửa giải.

Dùng bộ cô quay (3.3.2) để cô hai chất rửa giải riêng rẽ đến thể tích nhỏ yêu cầu. Kiểm tra từng dịch rửa giải bằng sắc ký khí lỏng (GLC). Có thể cần phải tinh sạch tiếp lần thứ hai lên cột hấp phụ mới chuẩn bị hoặc theo qui định trong TCVN 7082-1 (ISO 3890-1), Phụ lục A.

Dịch rửa giải thứ nhất chứa HCB, đồng phân của CHC, heptaclo, heptaclo epoxit, aldrin, DDE, TDE và DDT. Dịch rửa giải thứ hai chứa dieldrin và endrin.

3.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phép thử sơ bộ, xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

4 Phương pháp B: Chiết phân đoạn lỏng-lỏng bằng dimetylfocmamid (DMF) và tinh sạch trên cột alumin

4.1 Nguyên tắc

Xem các tài liệu tham khảo [4] và [5].

Các hợp chất clo hữu cơ cùng với chất béo được chiết ra khỏi mẫu thử bằng một trong các qui trình qui định trong A.6 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1), sau đó dư lượng được tách bằng dimetylfocmamid. Sau khi bổ sung dung dịch natri sulfat, các hợp chất hữu cơ được tách tiếp trong *n*-hexan. Pha hữu cơ được tinh sạch bằng chạy sắc ký trên nhôm oxit trung tính dùng *n*-hexan làm dung môi rửa giải. Dịch rửa giải được cô đặc rồi kiểm tra bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

Các phương pháp đặc thù được qui định cho sữa và bơ.

4.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

4.2.1 *n*-hexan [CH₃(CH₂)₄CH₃], dải sôi từ 68 °C đến 70 °C.

Kiểm tra về độ tinh khiết để dùng cho sắc ký khí dưới các điều kiện cột làm việc. Chung cất trên kali hydroxit, nếu cần.

4.2.2 Axeton (CH₃COCH₃), loại thuốc thử dùng cho mục đích chung.

4.2.3 Dimetylfocmamid (DMF)

TCVN 7082-2:2010

Kiểm tra dịch chiết bằng *n*-hexan của dung dịch loãng về sự nhiễu pic trên sắc ký khí lỏng (GLC).
Chưng cất lại dung môi nếu cần, và thu nhận phần có dải sôi từ 152 °C đến 154 °C.

4.2.4 *n*-Hexan, đã bão hoà dimetylfocamid.

4.2.5 Dimetylfocamid, bão hoà *n*-hexan.

4.2.6 Cát, đã rửa bằng axit.

Nung ở 500 °C trong 4 h, để nguội và bảo quản trong chai đậy nắp kín.

4.2.7 Natri sulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) khan, dạng hạt.

Nung ở 500 °C trong 4 h, để nguội và bảo quản trong chai đậy nắp kín.

4.2.8 Nhôm oxit (Al_2O_3), trung tính, đã hoạt hoá.

Nung nhôm oxit ở 500 °C trong 4 h, rồi để nguội. Cân thận cho 7 phần nước vào 93 phần nhôm oxit (phần khối lượng) và trộn kỹ trong bình đậy kín ít nhất 90 min. Giữ nguyên bình đậy nắp kín này và sử dụng nhôm oxit trong vòng 10 ngày.

4.2.9 Dung dịch natri sulfat, dung dịch 2 % phần khối lượng.

4.3 Thiết bị, dụng cụ

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

4.3.1 Bộ chiết Soxhlet

4.3.2 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²⁾ hoặc loại tương đương), có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với một ống chia độ.

4.3.3 Bộ trộn tốc độ cao

4.3.4 Cột sắc ký, dài 300 mm, có đường kính trong 12 mm và có van khoá PTFE.

4.3.5 Cột Micro-Snyder³⁾

4.4 Cách tiến hành

4.4.1 Chiết chất béo và hợp chất clo hữu cơ

³⁾ Micro-Snyder là một ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

4.4.1.1 Phương pháp chung

Xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

4.4.1.2 Phương pháp đặc thù

4.4.1.2.1 Sữa

Chuyển vào cốc trộn vortex dung tích 250 ml theo thứ tự sau đây: 40 ml sữa đã trộn đều, 80 ml axeton (4.2.2) và 80 ml *n*-hexan (4.2.1). Đồng hoá hỗn hợp trong 3 min. Chuyển ngay lượng đã trộn đều sang ống ly tâm 250 ml, làm sạch dao trộn bằng 10 ml *n*-hexan, sau đó bằng 5 ml nước và cho nước rửa vào ống ly tâm.

Quay ống 5 min trong máy ly tâm ở tần số quay 2 500 r/min. Tách lớp dung môi *n*-hexan và cho đi qua cột ngăn natri sulfat khan (4.2.7). Rửa lượng chứa trong ống hai lần liên tiếp, mỗi lần dùng 25 ml *n*-hexan và cho nước rửa đi qua cột. Cô dịch chiết hỗn hợp trong bộ cô quay (4.3.2) đến khoảng 15 ml. Chuyển dung dịch này sang phễu chiết 100 ml được chia vạch 25 ml và chỉnh thể tích đến 25 ml. (Xem thêm 7.4.1.2.2 đối với sữa).

4.4.1.2.2 Bơ

Hoà tan 5 g butterfat đã phân loại (đã tan chảy và đã lọc qua bộ lọc) trong 10 ml *n*-hexan. Chuyển dung dịch này sang phễu chiết 100 ml sử dụng ba phần *n*-hexan liên tiếp, mỗi phần 5 ml.

4.4.2 Tách chất béo và các hợp chất clo hữu cơ bằng DMF

Chiết chất béo từ 25 ml dung dịch hexan (4.4.1) bằng 10 ml dimethylformamid (DMF) đã bão hoà *n*-hexan (4.2.5), bằng cách lắc trong phễu chiết. Sau khoảng 2 min đến 3 min, cho lớp DMF thấp hơn chảy vào phễu chiết 100 ml thứ hai (giữ lại lớp nhũ tương phân cách trong phễu chiết thứ nhất). Lặp lại việc chiết dung dịch *n*-hexan thêm hai lần, mỗi lần dùng 10 ml DMF (4.2.5). Gộp các dịch chiết bằng DMF lại và tráng rửa bằng 10 ml *n*-hexan đã bão hoà DMF (4.2.4).

Tách lấy 10 ml *n*-hexan và rửa tiếp bằng 10 ml DMF (4.2.5). Loại *n*-hexan và cho nước rửa vào 30 ml dịch chiết DMF ban đầu đựng trong phễu chiết 500 ml (hoặc tốt hơn là phễu chiết 350 ml). Thêm 6 ml *n*-hexan (4.2.1) và lắc mạnh với 200 ml dung dịch natri sulfat (4.2.9) trong 2 min.

Để yên trong 20 min cho tách pha. Thu lấy pha *n*-hexan bằng cách xoay nhẹ. Tháo bỏ pha nước, làm khô phễu chiết bằng giấy lọc và cho *n*-hexan chảy vào ống chia độ có cổ thủy tinh mài đựng 15 ml dung môi. Tráng phễu chiết bằng một lượng nhỏ *n*-hexan và cho nước tráng này vào ống.

Lắp ống với cột micro-Snyder³⁾ (4.3.5) và cô dịch chiết bằng *n*-hexan cho đến khi còn lại khoảng 2 ml.

4.4.3 Làm sạch trên nhôm oxit bằng *n*-hexan

Rót 5 g dung dịch nhão của nhôm oxit đã chuẩn bị (4.2.8) trong *n*-hexan (4.2.1) vào cột sắc ký (4.3.4) có nút bằng bông sợi bông đã rửa bằng dung môi [A.5.15 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1)]. Để nhôm oxit lắng và phủ lên nó một lớp 30 mm natri sulfat khan (4.2.7). Tháo *n*-hexan cho đến khi mặt lõm chạm đến đỉnh của lớp natri sulfat. Cho dịch chiết *n*-hexan (4.4.2) lên cột và rửa bằng các phần 2 ml *n*-hexan rồi cho nước rửa lên cột.

Rửa giải bằng 50 ml *n*-hexan (4.2.1) với tốc độ dòng không quá 5 ml/min, thu lấy chất rửa giải vào bộ cô quay (4.3.2). Cô chất rửa giải cho đến khi còn khoảng 5 ml. Tháo ống chia độ ra, lắp cột micro-Snyder³) (4.3.5) và cô chất rửa giải đến khi còn 1 ml.

4.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phép thử sơ bộ, v.v..., xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

5 Phương pháp C: Chiết phân đoạn lỏng-lỏng bằng dimethylfocmamid (DMF) và làm sạch trên cột Florisil

5.1 Nguyên tắc

Xem tài liệu tham khảo [6].

Các hợp chất clo hữu cơ cùng với chất béo được chiết ra khỏi mẫu bằng qui trình qui định trong 5.4.1. Dịch chiết được cô gần như đến khô rồi hoà tan trong dầu nhẹ. Các hợp chất clo hữu cơ được tách trong dimethylfocmamid. Sau khi bổ sung dung dịch natri sulfat, các hợp chất hữu cơ được tách tiếp trong dầu nhẹ.

Pha hữu cơ được tinh sạch bằng sắc ký trên cột Florisil¹⁾, sử dụng dầu nhẹ và dietyl ete làm dung môi rửa giải. Dịch rửa giải được cô đặc rồi được kiểm tra bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

5.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

5.2.1 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 30 °C đến 40 °C, được cất lại.

5.2.2 Dietyl ete (C₂H₅OC₂H₅), không chứa peroxit.

5.2.3 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 60 °C đến 80 °C, được cất lại.

5.2.4 Dung môi rửa giải, hỗn hợp của dietyl ete (5.2.2) và dầu nhẹ (5.2.1) (6 + 94 phần thể tích).

5.2.5 Chất hấp phụ: Florisil, cỡ từ 60 mesh đến 100 mesh.

Nung chất hấp phụ ở nhiệt độ 650 °C trong 2 h trong lò. Để nguội đến 130 °C và giữ trong 5 h ở nhiệt độ này trong tủ sấy. Sau đó, để nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm rồi chuyển sang bình có nắp đậy kín khí. Cho 5 phần nước cất vào 95 phần chất hấp phụ (tính theo thể tích) và lắc cho đến khi tan hết các cục. Để yên trong 24 h và lắc trước khi sử dụng.

5.2.6 Natri sulfat (Na_2SO_4), khan, dạng hạt.

Nung ở nhiệt độ 500 °C \pm 25 °C trong 4 h. Để nguội và bảo quản trong chai đậy nắp.

5.2.7 Dimethylfocmamid (DMF), bão hoà với dầu nhẹ

Chưng cất DMF và thu nhận phần có dải sôi từ 152 °C đến 154 °C rồi cho bão hoà với dầu nhẹ (5.2.1).

5.2.8 Dầu nhẹ (5.2.1), được bão hoà với dimethylfocmamid.**5.2.9 Dung dịch Natri sulfat (Na_2SO_4), dung dịch 2 %.****5.2.10 *n*-hexan [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$].****5.3 Thiết bị, dụng cụ**

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

5.3.1 Bộ trộn tốc độ cao

5.3.2 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²⁾ hoặc loại tương đương), có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với một ống chia độ.

5.3.3 Cột sắc ký, dài 300 mm, đường kính trong 20 cm, có đĩa thuỷ tinh chịu nhiệt và có van khoá bằng PTFE.

5.4 Cách tiến hành**5.4.1 Chiết chất béo và hợp chất clo hữu cơ**

Đối với các phương pháp chung, xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

5.4.2 Chiết phân đoạn chất béo và thuốc bảo vệ thực vật bằng DMF

Hoà tan dịch chiết của mẫu chứa từ 2 g đến 5 g chất béo vào trong 25 ml dung dịch dầu nhẹ đã bão hoà DMF (5.2.8). Chuyển sang phễu chiết 250 ml. Chiết bằng các lượng nhỏ DMF đã bão hoà dầu nhẹ (5.2.7) đã biết thể tích (ví dụ 75 ml) vào phễu chiết. Mỗi lần lắc mạnh từ 1 min đến 2 min và tháo pha DMF cho chảy vào phễu chiết 500 ml. Trộn các pha hỗn hợp với 200 ml dung dịch natri sulfat (5.2.9) và mỗi lần lắc từ 1 min đến 2 min, một lần dùng 40 ml và ba lần tiếp mỗi lần dùng 25 ml dầu nhẹ (5.2.3).

TCVN 7082-2:2010

Thu lấy các pha dầu nhẹ và rửa với khoảng 10 ml nước. Làm khô trên natri sulfat (5.2.6) và lọc qua nút sợi bông. Sau khi thêm khoảng 5 ml *n*-hexan (5.2.10) qua nút sợi bông, cô thể tích này đến khi còn khoảng 5 ml bằng bộ cô quay (5.3.2).

5.4.3 Làm sạch trên cột Florisil¹⁾ bằng dầu nhẹ

Làm đầy nửa cột sắc ký (5.3.3) bằng dầu nhẹ (5.2.3). Cho 20 g chất hấp phụ đã khử hoạt tính (5.2.5) với các lượng nhỏ qua phễu, giữ van PTFE mở từng phần và gỡ nhẹ cột. Chỉ sử dụng các cột không có bọt khí nhìn thấy được. Phủ lên một lớp 20 mm natri sulfat khan (5.2.6) và tháo dầu nhẹ chảy đến mặt cột.

Chuyển dịch chiết mẫu lên cột với vài mililit dung môi rửa giải (5.2.4). Để cho chảy vào cột, làm đầy bằng cách mở khoá cho đến khi mặt lõm chạm đến lớp natri sulfat (5.2.6).

Dùng vài mililit dung môi rửa giải (5.2.4) để rửa vật chứa ban đầu và tiến hành như trên. Rửa giải cột ở tốc độ dòng không quá 5 ml/min bằng 200 ml dung môi rửa giải rồi cho vào bình đáy tròn 500 ml. Cô dịch rửa giải trong bộ cô quay (5.2.3) còn 5 ml. Chuyển dịch chiết đã cô sang ống chia độ có dietyl ete (5.2.2) và pha loãng bằng dietyl ete đến thể tích đã định (từ 10 ml đến 20 ml).

5.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phép thử sơ bộ v.v... xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

6 Phương pháp D: Sắc ký cột trên nhôm oxit có hoạt tính được xác định chính xác

6.1 Nguyên tắc

Xem tài liệu tham khảo [7].

Các hợp chất clo hữu cơ được chiết tách ra khỏi mẫu thử bằng axeton và *n*-hexan. Axeton được tách pha trong dung dịch natri sulfat. *n*-hexan được làm khô và cô đặc. Lượng dịch chiết chất béo qui định được tinh sạch bằng sắc ký trên cột nhôm oxit trung tính có hoạt tính được biết chính xác, dùng *n*-hexan làm dung môi rửa giải.

Dịch rửa giải được cô rồi kiểm tra bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

6.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

6.2.1 Axeton (CH_3COCH_3)

6.2.2 *n*-hexan [CH₃(CH₂)₄CH₃].**6.2.3 Natri sulfat** (Na₂SO₄), khan, dạng hạt.

Nung ở nhiệt độ 500 °C trong 4 h, để nguội và bảo quản trong chai đậy nắp.

6.2.4 Dung dịch natri sulfat, dung dịch 2 %.**6.2.5 Nhôm oxit** (Al₂O₃), trung tính (Woelm W 200⁴⁾, hoạt tính cấp loại 1 hoặc tương đương).

Nung sơ bộ nhôm oxit ở nhiệt độ 500 °C ± 25 °C trong khoảng từ 3 h đến 4 h để loại hết ẩm và bất kỳ chất hữu cơ gây nhiễu và để nguội trên phospho pentoxit. Khử một phần hoạt tính bằng cách cho khoảng 10 ml nước chia thành các lượng từ 2 ml đến 3 ml vào 90 g nhôm oxit trong khi vẫn lắc bình hoặc chai. Đậy chặt nắp bình hoặc chai và lắc hoặc đặt trên trục lăn để trộn kỹ. Trước khi sử dụng, để trong bình đậy nắp ở nhiệt độ môi trường khoảng 24 h cho cân bằng. Chuẩn hoá vật liệu như sau: Cân 22,0 g nhôm oxit. Chuẩn bị dung dịch nhão trong một thể tích nhỏ *n*-hexan (6.2.2) và chuyển sang cột sắc ký khí (6.3.2). Cho lên cột một lớp 10 mm natri sulfat khan (6.2.3) và rửa cột bằng 15 ml đến 20 ml *n*-hexan. Chính lớp *n*-hexan chỉ vừa thấp dưới đỉnh của lớp natri sulfat.

Đặt bình nhận có dung tích thích hợp (ít nhất 250 ml) dưới cột. Dùng pipet lấy một thể tích nhỏ dung dịch *n*-hexan chứa 1 g dầu hoặc mỡ động vật cho lên đỉnh cột, chú ý để cho pipet xả hết và dầu không được phép chảy xuống theo thành cột. Để cho mức dầu trong dung dịch *n*-hexan chảy xuống đỉnh của lớp natri sulfat. Thêm 2 ml *n*-hexan và lại cho chảy xuống dưới.

Rửa giải cột bằng 150 ml *n*-hexan. Cho bay hơi dịch rửa giải đến một thể tích nhỏ trong bộ bộ cô quay (6.3.3) và chuyển lượng này sang bình cân đã được sấy trước ở 110 °C, làm nguội và đã được cân. Loại bỏ dung môi còn lại bằng cách làm nóng dưới dòng khí nitơ nhẹ. Làm khô trong tủ sấy ở 110 °C trong 5 min. Để nguội trong bình hút ẩm và cân chính xác đến 0,01 g. Đảm bảo rằng khối lượng của chất béo thu được là không đổi. Khối lượng chất béo này là m_A .

Dùng pipet lấy tiếp một thể tích tương tự của dung dịch *n*-hexan ban đầu cho vào bình cân khác đã được cân trước, cho bay hơi, sấy khô và cân như trên. Khối lượng chất béo này là m_B .

Dung tích chất béo của cột bằng ($m_B - m_A$) g chính xác đến 0,01 g. Chính hoạt tính của nhôm oxit, nếu cần, trong một số giai đoạn, sao cho dung tích chất béo của cột bằng 0,62 g ± 0,02 g chất béo động vật hoặc dầu thực vật tinh luyện hoặc 0,52 g ± 0,02 g butterfat.

Khử hoạt tính của nhôm oxit đủ cho một dãy các phép phân tích (ví dụ, khối lượng còn lại trong chai là 500 g) đối với lượng chất béo xác định.

⁴⁾ Một ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

6.3 Thiết bị, dụng cụ

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

6.3.1 Bộ trộn tốc độ cao

6.3.2 Cột sắc ký, dài 300 mm, đường kính trong 20 mm, có van khoá bằng PTFE.

6.3.3 Bộ cô quay (Kuderna-Danish ²⁾ hoặc loại tương đương), có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với một ống chia độ.

6.3.4 Bông thủy tinh, được rửa bằng dầu nhẹ.

6.4 Cách tiến hành

6.4.1 Phương pháp chung

Đối với phương pháp chung, xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

6.4.2 Phân mẫu thử

Cân một lượng mẫu, chính xác đến 0,01 g, để có khoảng 0,7 g chất béo, đối với sản phẩm dạng rắn thì nghiền nhỏ mẫu.

6.4.3 Chiết chất béo và các hợp chất clo hữu cơ

Trộn phần mẫu thử với 50 ml axeton (6.2.1) trong máy trộn tốc độ cao (6.3.1) trong 2 min. Thêm 200 ml *n*-hexan (6.2.2) và trộn tiếp cho đến khi phá xong mẫu. Để cho tách pha. Gạn lấy một thể tích tối đa dịch chiết vào phễu chiết 1 lít qua lớp natri sulfat khan (6.2.3) trên bông thủy tinh (6.3.4). Rửa dịch chiết hai lần bằng 500 ml dung dịch natri sulfat (6.2.4), loại bỏ lớp nước phía dưới cùng với một ít *n*-hexan.

Chuyển 10 ml dịch chiết *n*-hexan vào bình cân đã cân trước đó và xác định chất béo chiết được theo 6.4.4. Dựa vào cách tính trong 6.4.4, chuyển một thể tích dịch chiết được bằng *n*-hexan có chứa 0,40 g sữa, phomat hoặc butterfat vào bộ cô quay (6.3.3). Cô đặc lượng được chuyển sang cho đến khi còn khoảng từ 5 ml đến 8 ml, lấy ra và cho bay hơi tiếp từ 1 ml đến 2 ml trên nồi cách thủy ở nhiệt độ trong khoảng từ 60 °C đến 70 °C dưới dòng nitơ.

6.4.4 Xác định chất béo chiết được

Chuyển 10 ml dịch chiết hexan vào bình cân đã cân trước. Cho bay hơi đến khô ở nhiệt độ 60 °C dưới dòng nitơ. Sấy khô cạn 15 min ở trong lò sấy 105 °C, để nguội và cân bình chứa với cạn. Lặp lại qui trình sấy cho đến khi thu được khối lượng không đổi của bình cùng với cạn. Tính lượng chất béo bằng gam trên 10 ml dịch chiết hexan là hiệu số của khối lượng sau cùng (tính bằng gam) sau khi sấy và

khối lượng (tính bằng gam) của bình cân đã cân trước. Không sử dụng phép xác định hàm lượng chất béo này để tính dư lượng các hợp chất clo hữu cơ.

6.4.5 Làm sạch

Chuẩn bị 22 g dung dịch nhão nhôm oxit đã khử hoạt tính (6.2.5), có hàm lượng chất béo thích hợp, trong một thể tích nhỏ *n*-hexan và chuyển sang cột sắc ký (6.3.2). Phủ một lớp natri sulfat khan (6.2.3) 10 mm lên trên đỉnh cột và rửa cột bằng 15 ml đến 20 ml *n*-hexan. Chính mức *n*-hexan chỉ vừa thấp hơn đỉnh lớp natri sulfat. Chuyển lên đỉnh cột một phần dung dịch *n*-hexan đã cô đặc, chứa 0,50 g chất béo (0,40 g bơ, sữa hoặc phomat) đã chuẩn bị theo 6.4.3. Rửa giải cột bằng 150 ml *n*-hexan và cô đặc dịch rửa giải trong bộ cô quay (6.3.3) cho đến khi còn khoảng 8 ml.

Nếu cần, chuyển sang ống chia độ và cho bay hơi tiếp trong nồi cách thủy ở 50 °C dưới dòng nitơ, cho đến khi thể tích còn 2 ml đến 3 ml. Lấy ống cùng với dịch rửa giải ra khỏi nồi cách thủy và cho bay hơi tiếp ở nhiệt độ môi trường cho đến khi thể tích cuối cùng còn 1,0 ml rồi đậy nắp ống.

6.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phép thử sơ bộ, xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

7 Phương pháp E: Sắc ký cột trên cột alumin

7.1 Nguyên tắc

Xem tài liệu tham khảo [8].

Các hợp chất clo hữu cơ được chiết tách ra khỏi mẫu bằng dầu nhẹ. Lượng dịch chiết chất béo qui định được tinh sạch bằng sắc ký trên nhôm oxit có hoạt tính xác định chính xác, dùng dầu nhẹ làm dung môi rửa giải. Dịch rửa giải được cô đặc và được xác định bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

7.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

7.2.1 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C, đã chưng cất.

7.2.2 Axeton (CH₃COCH₃).

7.2.3 Natri sulfat (Na₂SO₄) khan, dạng hạt.

Nung trong 4 h ở nhiệt độ 500 °C, để nguội rồi bảo quản trong chai đậy kín.

TCVN 7082-2:2010

7.2.4 Cát, đã rửa bằng axit.

Nung trong 4 h ở nhiệt độ $500\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, để nguội rồi bảo quản trong chai đậy kín.

7.2.5 Nhôm oxit (Al_2O_3), kiểm tính (Woelm W 200⁴), hoạt tính cấp loại 1 hoặc tương đương).

Cân bình còn nguyên nắp đậy. Cho nhanh 27 ml nước vào lượng chứa trong bình (thường là 515 g). Đậy ngay nắp bình. Lắc mạnh và để yên 24 h rồi chuyển lượng chứa này sang chai có nắp đậy kín.

Cân chai rỗng ban đầu và tính hàm lượng nước của nhôm oxit đã khử hoạt tính. Tỷ lệ của các phần thu được phải là 9,5 : 0,5 (phần thể tích). Điều chỉnh, nếu cần. Kiểm tra hoạt tính của nhôm oxit bằng sắc ký dung dịch chuẩn β -HCH không chứa chất béo theo qui trình dưới đây. Độ thu hồi β -HCH cũng như chất béo giữ lại phải lớn hơn 95 % phần khối lượng. Nếu độ thu hồi β -HCH quá thấp thì tăng dần hàm lượng nước của nhôm oxit bằng cách trộn 0,2 phần nước cát với 99,8 phần nhôm oxit (theo khối lượng).

7.3 Thiết bị, dụng cụ

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

7.3.1 Thiết bị Soxhlet.

7.3.2 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²) hoặc loại tương đương) có bình dung tích 500 ml và được gắn với ống chia độ.

7.3.3 Bộ trộn tốc độ cao.

7.3.4 Máy ly tâm, có thể quay với tần số $2\ 500\ \text{min}^{-1}$.

7.3.5 Bông thạch anh.

7.3.6 Cột sắc ký, dài 175 mm với đường kính trong 6 mm, có lối thoát dài 40 mm với đường kính trong 1 mm và có ống đựng dung môi dài 125 mm với đường kính trong 70 mm.

7.3.7 Ống chia độ, dung tích 25 ml.

7.4 Cách tiến hành

7.4.1 Chiết chất béo và các hợp chất clo hữu cơ

7.4.1.1 Phương pháp chung

Xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

7.4.1.2 Phương pháp đặc thù

7.4.1.2.1 Butterfat khan

Làm nóng mẫu đến khoảng 50 °C và lọc qua bộ lọc ẩm, khô.

Hoà tan chất béo trong dầu nhẹ (7.2.1) để thu được dung dịch chứa từ 35 mg/ml đến 50 mg/ml. Sử dụng 2 ml để phân tích.

7.4.1.2.2 Sữa

Chuyển vào bộ trộn tốc độ cao (7.3.3) theo thứ tự sau: 40 ml sữa, 80 ml axeton (7.2.2) và 80 ml dầu nhẹ (7.2.1). Trộn và cho ly tâm hỗn hợp ở tần số 2 500 min⁻¹ trong 5 min. Lấy một lượng, ví dụ: 10 ml từ lớp dầu nhẹ phía trên. Làm khô bằng cách lọc qua natri sulfat (7.2.3) và rửa natri sulfat bằng một ít dầu nhẹ. Loại bỏ phần lớn lượng dầu nhẹ bằng bộ cô quay (7.3.2).

Chỉnh thể tích sao cho thu được nồng độ chất béo từ 35 mg/ml đến 50 mg/ml. Sử dụng 2 ml để phân tích. [Xem thêm phương pháp B, 4.4.1.2.1].

7.4.1.2.3 Phomat

Trộn 20 g đến 25 g mẫu trong bộ trộn tốc độ cao (7.3.3) với 50 ml dầu nhẹ (7.2.1). Làm khô bằng cách lọc qua natri sulfat (7.2.3) và rửa natri sulfat bằng một ít dầu nhẹ. Loại bỏ phần lớn lượng dầu nhẹ trong bộ cô quay (7.3.2).

Chỉnh thể tích sao cho thu được nồng độ chất béo từ 35 mg/ml đến 50 mg/ml. Sử dụng 2 ml để phân tích.

7.4.2 Sắc ký cột

Chèn nút nhỏ bằng bông thạch anh (7.3.5) vào lối thoát của cột sắc ký (7.3.6). Cân 4,0 g nhôm oxit đã khử hoạt tính (7.2.5) và chuyển lên cột. Gõ thành cột để nhồi cột được tốt. Chuyển sang cột 2 ml dung dịch thu được theo 7.4.1. Tráng thành trong của cột ba lần, mỗi lần dùng 1 ml dầu nhẹ (7.2.1). Rửa giải bằng 25 ml dầu nhẹ, thu lấy tất cả dịch rửa giải vào ống chia độ (7.3.7) và cô đặc đến thể tích thích hợp.

Để có được độ thu hồi tốt, đặc biệt là β -HCH, cần sử dụng ít nhất 70 mg chất béo trên cột 4,0 g nhôm oxit. Cột này có thể giữ được 100 mg chất béo một cách dễ dàng. Nếu cần phải xác định các lượng chất béo lớn hơn (ví dụ, khi detector không đủ độ nhạy), thì các lượng nhôm oxit và dầu nhẹ đề cập ở trên cần phải tăng lên tương ứng. Giai đoạn làm sạch cũng có thể dễ dàng hơn để cân lấy 250 mg chất béo.

7.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phương pháp thử sơ bộ, xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

8 Phương pháp F: Sắc ký cột trên Florisil đã khử hoạt tính một phần

8.1 Nguyên tắc

Xem các tài liệu tham khảo [9], [10] và [11].

Các hợp chất clo hữu cơ cùng với chất béo được chiết ra khỏi mẫu thử bằng quy trình trong A.6 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Dịch chiết được cô gần đến khô và tái hoà tan trong dầu nhẹ. Lượng dịch chiết chất béo qui định được tinh sạch bằng sắc ký trên cột Florisil dùng hỗn hợp của dầu nhẹ và diclorometan làm dung môi rửa giải. Dịch rửa giải được cô đến gần khô rồi hoà tan lại vào dầu nhẹ để xác định bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

Có phương pháp qui định riêng cho sữa, sữa đặc không đường và sữa đặc có đường.

8.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

8.2.1 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C, đã chưng cất.

8.2.2 Diclorometan, được chưng cất trên các hạt natri hydroxit (có điểm sôi ở 39 °C).

8.2.3 Dung môi rửa giải: hỗn hợp dầu nhẹ (8.2.1) và diclorometan (8.2.2) (4 + 1 phần thể tích).

8.2.4 Chất hấp phụ: Florisil¹⁾, cỡ 60 mesh đến 100 mesh.

Nung qua đêm ở nhiệt độ 550 °C ± 25 °C. Để nguội và bảo quản trong vật chứa kín khí.

Trước khi sử dụng, sấy ở 130 °C ± 2 °C ít nhất trong 5 h và thêm 3 phần nước cất vào 97 phần chất hấp phụ (phần khối lượng). Lắc hỗn hợp ít nhất 20 min và bảo quản trong vật chứa kín khí từ 10 h đến 12 h để đảm bảo sự phân bố đồng đều của nước. Sử dụng trong vòng 3 ngày.

8.3 Thiết bị, dụng cụ

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

8.3.1 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²⁾ hoặc loại tương đương), có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với ống chia độ.

8.3.2 Cột sắc ký, dài 600 mm với đường kính trong 22 mm, có van khoá PTFE.

8.4 Cách tiến hành

8.4.1 Chiết chất béo và hợp chất clo hữu cơ

8.4.1.1 Phương pháp chung

Xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

8.4.1.2 Phương pháp đặc thù

8.4.1.2.1 Sữa và sữa đặc không đường

Cân 10 g mẫu thử cho vào cốc có mỏ 250 ml và thêm 25 g chất hấp phụ (8.2.4), dùng đĩa thủy tinh để khuấy. Bột không được vón cục để có thể chảy qua được phễu hẹp.

8.4.1.2.2 Sữa đặc có đường

Cân 10 g mẫu thử cho vào cốc có mỏ 250 ml. Trộn kỹ với 5 ml nước cất. Thêm 25 g chất hấp phụ (8.2.4) và khuấy bằng đĩa thủy tinh.

8.4.2 Làm sạch trên Florisil¹⁾

Nút cột sắc ký (8.3.2) bằng nút bông thủy tinh. Rót vào cột 100 ml dầu nhẹ (8.2.1) và thêm 25 g chất hấp phụ (8.2.4). Sau khi cột điền đầy đã ổn định, cho dung môi chảy qua đến khoảng 10 mm cách phía trên lớp chất hấp phụ. Hoà tan 0,5 g đến 1 g chất béo chiết được trong 10 ml dầu nhẹ và chuyển lượng này lên trên chất hấp phụ trong cột.

Khi kiểm tra sữa và sữa đặc không đường (xem 8.4.1.2), cho chất hấp phụ đã được làm ướt bằng chất nền đi qua phễu hẹp lên cột của chất hấp phụ (8.2.4) đã được chuẩn bị như trên. Lắc để làm lắng. Rửa giải bằng 300 ml dung môi rửa giải (8.2.3). Tốc độ rửa giải không vượt quá 5 ml/min. Cô dịch rửa giải trong bộ cô quay (8.3.1) dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 40 °C, cho đến khi còn 2 ml. Sử dụng dòng không khí để loại bỏ dung môi thừa và chuyển lượng còn lại sang ống đong bằng các lượng nhỏ dầu nhẹ (8.2.1) và pha loãng đến 5 ml.

CHÚ THÍCH 1: Không cần thiết phải làm khô hẳn sau khi sử dụng không khí hoặc nitơ. Vết dầu nhẹ còn sót lại không ảnh hưởng đến kết quả, vì diclorometan gần như đã bay hơi hết trong suốt qui trình.

Với lý do kinh tế, qui trình đề cập trên đây có thể được sửa đổi thành qui trình nhỏ chỉ sử dụng 10 % chất hấp phụ có độ tinh khiết cao và các dung môi như sau. Cân 1,00 g chất béo chiết được, chính xác đến 0,01 g, cho vào bình định mức một vạch 20 ml. Pha loãng đến vạch 20 ml bằng dầu nhẹ và lắc kỹ để trộn đều.

TCVN 7082-2:2010

Nhét nút bông thủy tinh nhỏ vào cột sắc ký có đường kính 8 mm x 200 mm, được gắn một van thoát và có ống 30 ml ở đỉnh. Cho 15 ml dầu nhẹ lên cột và thêm từ từ 3,0 g Florisil đã chuẩn hoá (8.2.4). Dùng đĩa thủy tinh gõ nhẹ cạnh của cột để nhồi chặt chất hấp phụ. Khi Florisil đã ổn định, cho dung môi chảy qua cột đến cách đỉnh cột khoảng 10 mm.

Dùng pipet chuyển 2,00 ml (tương đương với 100 mg mẫu) dung dịch chất béo thu được bằng phương pháp thông thường hoặc bằng phương pháp rút ngắn, lên cột Florisil. Cho dung dịch chảy qua và rửa giải các hợp chất clo hữu cơ bằng 30 ml dung môi rửa giải (8.2.3). Thu dịch rửa giải vào bình cầu đáy tròn 100 ml. Thời gian rửa giải không ít hơn 15 min.

Cô dịch rửa giải trong bộ cô quay (8.3.1) cho đến khi còn khoảng 2 ml. Loại bỏ dung môi còn lại bằng cách thổi nhẹ luồng không khí sạch. Thêm 2,00 ml isooctan vào lượng còn lại không nhìn thấy được, đậy nắp và xoay bình. Dùng dịch cô đặc này để phân tích sắc ký khí.

8.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phương pháp thử sơ bộ, xem Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

9 Phương pháp G: Sắc ký cột trên silicagel đã khử hoạt tính một phần

9.1 Nguyên tắc

Xem tài liệu tham khảo [12].

Các hợp chất clo hữu cơ cùng với chất béo được chiết ra khỏi mẫu thử. Dịch chiết được tinh sạch trên sắc ký cột silicagel rửa giải bằng hỗn hợp của dầu nhẹ và dichlorometan (80 + 20 phần thể tích). Dịch rửa giải được cô rồi xác định bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

9.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

9.2.1 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C.

Chưng cất trên cột Raschig có chiều dài tối thiểu 500 mm, nếu cần.

9.2.2 Dichlorometan, được chưng cất trên các hạt natri hydroxit (NaOH) (có điểm sôi ở 39 °C).

9.2.3 Dung môi rửa giải: hỗn hợp của dầu nhẹ (9.2.1) và dichlorometan (9.2.2) (4 + 1 phần thể tích).

9.2.4 Silica gel, cỡ 70 mesh đến 230 mesh⁵⁾.

Hoạt tính bằng cách nung ở nhiệt độ $450\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 3 h. Để nguội và bảo quản trong vật chứa kín khí.

9.2.5 Silicagel đã khử hoạt tính

Trộn 90 phần silicagel hoạt tính (9.2.4) với 10 phần nước (theo thể tích). Lắc hỗn hợp ít nhất trong 20 min rồi bảo quản trong chai kín ít nhất từ 10 h đến 12 h để đảm bảo nước được phân bố đồng đều.

9.2.6 *n*-hexan [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$], hoặc *n*-heptan hoặc isoctan

Chung cất trên cột Raschig có chiều dài tối thiểu 500 mm, nếu cần.

9.3 Thiết bị, dụng cụ

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

9.3.1 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,01 g.

9.3.2 Bộ cô quay (Kuderna-Danish ²⁾ hoặc loại tương đương) có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với ống chia độ.

9.3.3 Cột sắc ký, đường kính trong 22 mm, có van khoá PTFE.

Các cột có chiều dài 250 mm với đoạn nối phía trên cho thấy thoải mãn.

9.3.4 Bình bay hơi, dung tích 500 ml.**9.3.5 Cốc có mỏ, với các loại kích cỡ khác nhau.****9.3.6 Pipet.****9.3.7 Phễu.****9.3.8 Bông thủy tinh, được rửa bằng dầu nhẹ (9.2.1).****9.3.9 Đũa thủy tinh, đường kính 8 mm.****9.3.10 Bơm nước chân không.**

⁵⁾ Sản phẩm No. 7734 của Merck, Darmstadt, Đức cho thấy phù hợp. Hàm lượng và qui trình phân tích đã được thử nghiệm sử dụng sản phẩm này. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

9.4 Cách tiến hành

9.4.1 Chiết chất béo và hợp chất clo hữu cơ

Phương pháp chung, xem Phụ lục A của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

9.4.2 Làm sạch

9.4.2.1 Chất béo và các hợp chất clo hữu cơ

Nút cột sắc ký (9.3.3) bằng nút bông thủy tinh (9.3.8) và làm đầy cột bằng cách rung với 15 g silicagel đã khử hoạt tính (9.2.5). Hoà tan 0,5 g chất béo chiết được (9.4.1) trong 5 ml dầu nhẹ (9.2.1) và dùng pipet thích hợp chuyển lượng này lên đỉnh cột silicagel.

Rửa giải bằng 130 ml dung môi rửa giải (9.2.3). Thêm 1 ml dung dịch chuẩn nội vào dịch rửa giải. Cô dịch rửa giải chậm dưới áp suất giảm đến 1 ml trong bộ cô quay (9.2.3) ở 40 °C và bơm nước (9.3.10). Loại bỏ dung môi còn lại bằng luồng không khí và chuyển lượng cặn sang ống đông bằng các lượng nhỏ *n*-hexan (9.2.6). Pha loãng đến thể tích 1 ml.

9.4.2.2 Qui trình rút gọn đối với sữa, sữa bột và phomat

Xem tài liệu tham khảo [13].

Trộn 10 g sữa hoặc 10 g sữa bột đã được pha loãng bằng nước theo hệ số cô đặc, hoặc 2 g đến 4 g sữa bột đã hoàn nguyên với 10 ml nước ở 40 °C hoặc từ 2 g đến 5 g phomat cùng 8 ml đến 9 ml nước với 15 g silicagel đã hoạt tính (9.2.4) trong cốc có mỏ. Khuấy liên tục bằng đũa thủy tinh (9.3.9) để thu được bột chảy tự do không vón cục.

Khối lượng chất béo trong mẫu phải từ 0,3 g đến 0,8 g, thì phù hợp với khả năng "tách" chất béo của lớp silicagel với 10 % phần khối lượng nước (phía dưới).

Khối lượng nước trong mẫu phải đạt khoảng 10 g. Nếu không đạt, thì bổ sung một lượng nước thích hợp. Chỉ có lượng nước đưa vào bằng 40 % phần khối lượng silicagel đã khử hoạt tính theo cách đó thì các hợp chất clo hữu cơ mới được chuyển cùng với dung môi lên đỉnh lớp silicagel "tách" với 10 % nước phía dưới.

Làm đầy cột sắc ký (9.3.3) bằng 30 g silicagel đã khử hoạt tính (9.2.5) và chuyển hỗn hợp của mẫu với silicagel qui định trong đoạn thứ nhất lên đỉnh cột. Tráng cốc có mỏ hai lần mỗi lần dùng 50 ml dung môi rửa giải (9.2.3) và cẩn thận cho nước tráng lên đỉnh cột. Cho tiếp 300 ml dung môi rửa giải (9.2.3) lên cột và rửa giải với tốc độ dòng không quá 5 ml/min. Cho dung dịch chuẩn nội vào dịch rửa giải. Cô từ từ dịch rửa giải dưới áp suất giảm đến khoảng 1 ml, ví dụ: dùng bộ cô quay (9.3.2) ở 30 °C. Cẩn

thận cho bay hơi dung môi còn lại ở áp suất môi trường và nhiệt độ phòng đến (gần) khô. Thêm *n*-hexan hoặc isooctan (9.2.6) vào lượng cặn đến 2 ml.

CHÚ THÍCH: Quy trình đã qui định này có thể được thu nhỏ theo hệ số 2 bằng cách giảm lượng mẫu và thuốc thử tương ứng.

9.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phương pháp thử sơ bộ, xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

10 Phương pháp H: Sắc ký thẩm thấu gel

10.1 Nguyên tắc

Các hợp chất clo hữu cơ được chiết ra khỏi mẫu thử và dung môi chiết được làm bay hơi đến một thể tích nhỏ. Dịch chiết được hoà tan trong hỗn hợp của etyl axetat và xyclohexan và được tinh sạch bằng sắc ký sử dụng cột thẩm thấu gel, dùng hỗn hợp của etyl axetat và xyclohexan làm dung môi rửa giải. Dịch rửa giải được cô đặc rồi được kiểm tra bằng sắc ký khí lỏng (GLC).

10.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

10.2.1 Xyclohexan (C_6H_{12}), được chưng cất trên chất làm phân tán natri paraffin.

10.2.2 Etyl axetat ($CH_3CO_2C_2H_5$), đã chưng cất.

10.2.3 Etanol (C_2H_5OH), đã chưng cất.

10.2.4 Dietyl ete ($C_2H_5OC_2H_5$), không chứa peroxit, được chưng cất trên canxi clorua.

10.2.5 Natri sulfat (Na_2SO_4), khan, dạng hạt.

Nung trong 4 h ở nhiệt độ 500 °C, để nguội rồi bảo quản trong chai đậy kín.

10.2.6 Dung dịch Natri sulfat, dung dịch 2 % phần khối lượng trong nước cất hai lần.

10.2.7 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C, được chưng cất lại.

10.2.8 Gel sắc ký (Biorad, Bio-beads S-X3, cỡ 200 mesh đến 400 mesh hoặc tương đương)⁶⁾

⁶⁾ Biorad, Bio-beads là các ví dụ về các sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 7082-2:2010

10.2.9 Dung môi rửa giải: hỗn hợp của etyl axetat (10.2.2) và xyclohexan (10.2.1) (1 + 1 phần thể tích).

10.3 Thiết bị, dụng cụ

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

10.3.1 Bộ trộn tốc độ cao.

10.3.2 Thiết bị nhào trộn.

10.3.3 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²⁾ hoặc loại tương đương) có bình cầu dung tích 500 ml và được gắn với ống chia độ.

10.3.4 Máy đông khô.

10.3.5 Bộ chiết Soxhlet.

10.3.6 Sắc ký thẩm thấu gel (có bán sẵn hoặc do phòng thử nghiệm chế tạo).

10.3.7 Phễu chiết, dung tích 500 ml.

10.4 Cách tiến hành

10.4.1 Chiết chất béo và hợp chất clo hữu cơ

Phương pháp chung, xem Phụ lục A của TCVN 7082 -1 (ISO 3890-1).

10.4.2 Làm sạch bằng sắc ký thẩm thấu gel

Cân 3 g chất béo (thu được trong A.3, TCVN 7082-1 (ISO 3890-1), chính xác đến 0,01 g. Hoà tan trong dung môi rửa giải (10.2.9) và thêm dung môi này đến 50 ml. Cho 5 ml dung dịch này vào vòng của bộ sắc ký thẩm thấu gel (10.3.6).

Tách chất béo ra khỏi phần còn lại, sử dụng cột sắc ký gel (10.2.8) dài 320 mm, đã được ngâm trước trong dung môi rửa giải (10.2.9) và được nhồi vào ống có kích thước 25 mm x 400 mm.

Chỉnh tốc độ rửa giải đến 5 ml/min bằng cách đưa áp suất nhẹ vào cột (áp suất không quá 0,5 bar) và thu lấy 100 ml đến 160 ml dịch rửa giải có chứa chất béo cho vào bình cầu đáy tròn. Cô dịch rửa giải đến 5 ml trong bộ cô quay (10.3.3) dưới áp suất giảm ở 40 °C.

Sau mỗi mẫu, rửa cột bằng dung môi rửa giải (10.2.9) trong 3 min.

Nếu sử dụng cột do phòng thử nghiệm chế tạo thì nên điều chỉnh lượng mẫu và lượng thuốc thử tương ứng.

10.5 Sắc ký khí

Xem 6.2 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1). Đối với các phương pháp thử sơ bộ, xem từ Điều 10 đến Điều 14 của TCVN 7082-1 (ISO 3890-1).

11 Phép khẳng định và qui trình tinh sạch bổ sung

11.1 Phép khẳng định A: Xác định các hợp chất clo hữu cơ bằng sắc ký khí mao quản thủy tinh

11.1.1 Nguyên tắc

Xem các tài liệu tham khảo [14], [15] và [16].

11.1.2 Thiết bị, dụng cụ

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

11.1.2.1 Máy sắc ký khí, có bộ detector bắt giữ electron, có hệ thống bơm mao quản.

11.1.2.2 Cột mao quản, có các đặc tính sau:

- dài ít nhất 25 m;
- pha tĩnh CP-Sil 7,⁷⁾ SE 30,⁷⁾ OV⁷⁾ hoặc tương đương;
- chiều dày màng từ 0,1 μm đến 0,4 μm ;
- đường kính trong từ 0,1 mm đến 0,4 mm;
- pha động không chế được áp suất (khí mang: heli hoặc hydro);
- tốc độ tuyến tính từ 200 mm/s đến 400 mm/s;
- khí phụ trợ (nitơ hoặc hỗn hợp của argon và metan) tốc độ dòng khoảng 20 ml/min;
- tốc độ làm sạch detector khoảng 30 ml/min (nitơ hoặc hỗn hợp của argon và metan);
- nhiệt độ của bộ bơm 210 °C;
- nhiệt độ của detector từ 300 °C đến 350 °C; chương trình nhiệt độ phụ thuộc vào kỹ thuật bơm (xem dưới đây).

⁷⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này

11.1.3 Kỹ thuật bơm

11.1.3.1 Bộ bơm không phân dòng

Đóng bộ phân dòng và nắp của bộ phận xả nếu có.

Bơm từ 1 μl đến 5 μl (không phân dòng) khi nhiệt độ cột đạt 100 °C. Khi sử dụng các dung môi bay hơi mạnh hơn isoocetan, thì nên hạ nhiệt độ cột đến 90 °C hoặc thậm chí hạ đến 80 °C.

Sau khi bơm, mở bộ phân dòng (và nắp của bộ phận xả nếu có) trong thời gian ngắn (từ 0,25 min đến 3 min). Thời gian này phải được xác định bằng thực nghiệm.

Một phút sau khi mở bộ phân dòng, bắt đầu đặt chương trình nhiệt độ. Chương trình cài đặt nhiệt độ tăng từ 5 °C/min đến 40 °C/min. Nhiệt độ cuối cùng của chương trình khoảng từ 210 °C đến 230 °C.

Thời gian lưu cuối cùng phụ thuộc vào tốc độ chương trình nhiệt độ, nhưng cũng phải nằm trong khoảng từ 15 min đến 30 min.

Làm nguội đến nhiệt độ ban đầu.

Đóng bộ phân dòng (và nắp của bộ phận xả).

Bơm mẫu tiếp theo.

11.1.3.2 Bộ bơm bằng thủy tinh

Với dụng cụ này, có thể bơm 1 μl hoặc 2 μl qua nút nén cho vào mao quản. Vì dung môi đã được bay hơi hết nên có thể thực hiện phép phân tích đẳng nhiệt, việc làm lạnh hệ thống sắc ký khí ở cuối phép phân tích là không cần thiết.

11.1.4 Kiểm tra toàn bộ hệ thống

11.1.3.1 Kiểm tra cột mao quản thường xuyên (cột có bán sẵn hoặc cột được phòng thử nghiệm chế tạo) dưới các điều kiện tiêu chuẩn với các hợp chất cần thử.

11.1.4.2 Bơm một lượng hỗn hợp thuốc bảo vệ thực vật clo hữu cơ, chứa β -HCH, dieldrin, endrin và *p,p'*-DDT, ở 210 °C bằng một nhánh nhỏ (1 → 20). Đối với dieldrin (tỷ lệ > 5) thì số đĩa lý thuyết ít nhất là 80 000.

11.1.4.3 Các lượng endrin và dieldrin bằng nhau được bơm không phân dòng dưới các điều kiện nêu trong 11.1.3 cần cho kết quả tỷ lệ chiều cao pic ít nhất là 65 %. Nếu không đạt, thì sự hấp phụ đã làm cản trở việc rửa giải thông thường của endrin.

11.1.4.4 *p,p'*-DDT rất dễ bị phân hủy nên dùng làm hợp chất thử là thích hợp. Với các điều kiện nêu trong 11.1.2.1 thì có thời gian lưu lâu hơn tại cổng bơm. Đặc biệt lớp lót thủy tinh chưa khử hoạt tính

đủ sẽ dẫn đến sự phân huỷ. Bơm đẳng nhiệt (210 °C) *p,p'*-DDT có phân dòng (thời gian lưu ngắn), với phân dòng trên các cột lạnh (thể tích và nhiệt độ được qui định trong 11.1.2.1) và bơm không phân dòng dưới các điều kiện trong 11.1.2.1 cho thông tin về sự phân huỷ và ở mức độ nào.

11.1.4.5 Các phép thử độ tuyến tính nên được thực hiện đều đặn. Với thời gian sử dụng, chất lượng của cột giảm dần và sự hấp phụ tăng, đặc biệt ở các nồng độ thấp hơn.

11.1.5 Áp dụng và phân tích mẫu

Các hợp chất clo hữu cơ được chiết ra khỏi mẫu thử theo một trong các phương pháp nêu trong tiêu chuẩn này. Đặc biệt với các dịch chiết từ các mẫu béo, các chất có nhiệt độ sôi cao được bơm cùng với các hợp chất clo hữu cơ. Các hợp chất có nhiệt độ sôi cao hơn sẽ làm nhiễm bẩn lớp lót thủy tinh trong hệ thống bơm (hoặc bộ bơm bằng thủy tinh), dẫn đến hấp phụ các hợp chất có liên quan. Cần phải làm sạch thường xuyên. Trong trường hợp có lớp lót thủy tinh, có thể dùng cột tiền để thay cho lớp lót thủy tinh. Đặc biệt chú ý đến sự suy giảm *p,p'*-DDT.

11.2 Phép thử khẳng định B: Sắc ký lớp mỏng các hợp chất clo hữu cơ

11.2.1 Nguyên tắc

Xem tài liệu tham khảo [9].

Cho một lượng dịch chiết mẫu đã tinh sạch vào lớp mỏng nhôm oxit, cùng với một dãy hợp chất chuẩn. Sắc đồ được xác định bằng sự dịch chuyển từ dưới lên dùng dầu nhẹ làm pha động và các hợp chất tách được, được nhìn thấy bằng cách phun dung dịch bạc nitrat và phơi tiếp dưới đèn tia cực tím cường độ mạnh.

11.2.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

11.2.2.1 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 40 °C đến 60 °C, được chưng cất và hồi lưu qua các hạt natri hydroxit.

11.2.2.2 Dung dịch bạc nitrat (thuốc thử dạng phun).

Hoà tan 0,5 g bạc nitrat (AgNO_3) trong khoảng 1 ml nước. Cho thêm 99 ml etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) 95 % phần thể tích và trộn.

11.2.2.3 Các dung dịch chuẩn của các hợp chất clo hữu cơ chứa 0,05 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ trong isoctan.

11.2.2.4 Các tấm sắc ký lớp mỏng (TLC) được mạ trước, nhôm oxit, loại E (trung tính), F254, các tấm nhôm mỏng Merck số 5550⁸⁾.

⁸⁾ Merck số 5550 là một ví dụ về các sản phẩm thích hợp. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

11.2.3 Thiết bị, dụng cụ

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

11.2.3.1 Đèn cực tím, để phát hiện quang hoá các hợp chất clo hữu cơ trên sắc ký lớp mỏng (TLC).

Khuyến cáo sử dụng đèn đốt thạch anh cho mục đích phát hiện quang hóa của hãng Philip, kiểu loại HPK 125 W/L⁹⁾ với bộ biến thế VGI/HP 125 W.

11.2.4 Cách tiến hành

Cô đặc dịch chiết mẫu và dịch chiết mẫu trắng đến một thể tích thích hợp trong ống chia độ hoặc trong bình Kontes. Dùng micropipet chấm dịch chiết mẫu chứa một lượng hợp chất clo hữu cơ vừa đủ để tạo một vết chấm chứa từ 0,025 μg đến 0,25 μg trên tấm nhôm oxit đã mạ trước E. Thực hiện tương tự đối với thể tích thử mẫu trắng bằng thể tích mẫu.

Tiến hành chấm dung dịch chuẩn với tuần tự các vết chấm chứa 0,025 μg , 0,05 μg , 0,10 μg , 0,15 μg , 0,20 μg và 0,25 μg các hợp chất clo hữu cơ, tương ứng. Để có các kết quả tốt nhất cần giữ kích thước (đường kính vết chấm) của các phần mẫu và các dung dịch tiêu chuẩn càng nhỏ càng tốt.

Hiện sắc đồ trên một khoảng 150 mm bằng tấm thấu lên trong bể đã bão hoà trước, dùng dầu nhẹ (11.2.2.1) làm pha động. Khi pha động chạm đến vạch phía trước, thì lấy tấm sắc ký ra khỏi bể và để cho dung môi bám vào bay hơi hết.

Phun một lượng thừa dung dịch bạc nitrat trong etanol (11.2.2.2). Phun không đủ sẽ dẫn đến độ nhạy kém. Sau khi phun, chờ 10 min và xác định tấm phun một cách cẩn thận. Nếu tại thời điểm này, xuất hiện các vết chấm nâu hoặc đen thì chúng không phải là các hợp chất clo hữu cơ. Đôi khi cả mẫu thử lẫn thử mẫu trắng cho thấy có vùng vàng-nâu nhạt ở hệ số chạy f_r bằng 0,70.

Đánh dấu vị trí của các vết chấm bằng bút chì rồi đặt sắc đồ dưới đèn cực tím. Rọi 10 min. Lấy tấm này ra và phun nhẹ bằng nước cất cho đến khi sắc đồ chỉ vừa đủ ẩm. Phơi lại tấm này dưới đèn cực tím. Các hợp chất clo hữu cơ là các vết chấm đen tím xuất hiện trong 1 min đến 2 min.

Nếu không nhìn thấy rõ các vết chấm thì rọi tiếp 10 min. Làm ẩm lại và tiếp tục rọi từ 1 min đến 2 min cho đến khi ngay cả nồng độ thấp nhất của các dung dịch chuẩn có thể nhìn thấy rõ. Nếu các giá trị f_r khá thấp và tách kém, thì lặp lại phép sắc ký sử dụng dầu nhẹ chứa axeton 1 % phần thể tích.

CHÚ Ý – Để phát hiện tốt các hợp chất clo hữu cơ trên các lớp mỏng, môi trường thử nghiệm không nên chứa axit clohydric, clo hoặc các hợp chất sunfua dù ở dạng vết. Thậm chí hơi của các dung môi halogen hoá, như clorofom, sẽ làm tối nền dẫn đến độ nhạy phát hiện thấp.

11.2.5 Đánh giá sắc đồ

Nhận biết các vết chấm trong phần mẫu thử bằng cách so sánh với các vết chấm của các hợp chất chuẩn. Chỉ tính các vết chấm mà chúng không xuất hiện trong mẫu thử trắng. Các giá trị f_r đối với thuốc bảo vệ thực vật clo hoá được nêu trong Bảng 1.

⁹⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

Đánh giá lượng thuốc bảo vệ thực vật trong phần mẫu bằng cách so sánh với các vết chấm được đưa ra bởi các lượng khác nhau của các hợp chất chuẩn. Tốt nhất là sắc ký lớp mỏng và sắc ký khí cùng cho các kết quả định tính và định lượng như nhau. Vì các đánh giá bằng sắc ký lớp mỏng không được chính xác lắm, nên có thể có sự chênh lệch đáng kể so với kết quả thu được bằng sắc ký khí.

Thông thường trong các trường hợp này nên có hướng dẫn chung. Ví dụ, nếu sắc ký khí cho kết quả là 500 µg/kg và sắc ký lớp mỏng cho kết quả là 350 µg/kg, thì các kết quả này được coi là thoả mãn. Mặt khác, nếu kết quả thu được bằng sắc ký khí là 500 µg/kg và thu được bằng sắc ký lớp mỏng là 150 µg/kg thì cần lập lại phép phân tích.

11.3 Phép thử khẳng định C: Thay đổi hoá chất

11.3.1 Yêu cầu chung

Xem tài liệu tham khảo [17], [18], [19], [20] và [21].

Nhiều hợp chất clo hữu cơ có thể được chuyển thành các hợp chất khác bằng các phản ứng hoá học. Phản ứng chuyển hoá xảy ra trên cả dịch chiết mẫu chứa dư lượng được ước đoán và trên cả một lượng thích hợp của hợp chất chuẩn.

Việc so sánh tác động của hoá chất và sắc ký của sản phẩm phản ứng từ dịch chiết mẫu và hợp chất chuẩn cung cấp bằng chứng bổ sung để khẳng định sự có mặt dư lượng đã ước đoán có trong mẫu.

Trong số các hệ thống hoá chất khác nhau được xây dựng cho mục đích này, thì sự hình thành dẫn xuất trong chất nền rắn được khuyến cáo do tính đặc trưng, độ nhạy và dễ thực hiện.

Bốn kỹ thuật chuyển hoá hoá chất nền rắn để khẳng định việc nhận biết các hợp chất clo hữu cơ khác nhau được mô tả dưới đây. Chưa có kỹ thuật như vậy cho HCB và do đó dùng qui trình khẳng định chuyển hoá ướt cho hợp chất này.

11.3.2 Tạo dẫn xuất trong chất nền rắn

11.3.2.1 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

11.3.2.1.1 Nhôm oxit 60 (Al_2O_3), kiểu E tính kiềm, hoạt tính I, Merck 1067¹⁰⁾.

11.3.2.1.2 Nhôm oxit 90 (Al_2O_3), đã hoạt hoá, tính axit, hoạt tính I, Merck 1078¹⁰⁾.

¹⁰⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

Kiểm tra độ tinh khiết của cả hai chất hấp phụ bằng cách lắc 0,5 g với 2 ml toluen tinh khiết. Để cho chất rắn lắng xuống và bơm phần nổi phía trên cho sang bộ sắc ký khí lỏng dưới cùng điều kiện đã sử dụng để phân tích thuốc bảo vệ thực vật. Nếu quan sát thấy các pic, thì tinh sạch bằng cách nung ở $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong ít nhất 3 h.

Bảng 1 – Các giá trị f_r của các hợp chất clo hữu cơ và các sản phẩm biến chất của chúng trong hệ thống $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{E}$ và dầu nhẹ

Hợp chất	f_r
Metoxyclo	0,00
δ -HCH	0,00
Endosulfan B	0,02
β -HCH	0,03
ε -HCH	0,11
Dieldrin	0,12
Endrin	0,16
Heptaclo epoxit	0,18
γ -HCH	0,20
Pentachloroanilin	0,21
p,p' -TDE	0,23
Endosulfan A	0,23
o,p' -TDE	0,26
α -BHC	0,31
γ -Clorodan	0,39
α -Clorodan	0,45
p,p' -DDT	0,48
Oxyclorodan	0,54
o,p' - DDT	0,57
Heptaclo	0,60
o,p' -DDE	0,65
Pentachloronitrobenzen	0,68
Aldrin	0,72
Pentachlorobenzen	0,76
HCB	0,77
Mirex	0,80
Toxaphen (dạng vạch)	0,00 đến 0,70

CHÚ THÍCH: Các hỗn hợp PCB (như các loại được bán dưới tên gọi "Aroclor") không cho thấy các đốm tách rõ với các giá trị f_r từ 0,65 đến 0,75. Aroclor là một ví dụ trong dải các sản phẩm có bán sẵn trên thị trường. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng các sản phẩm này.

11.3.2.1.3 Toluene, etyl axetat hoặc isooctan (2,2,4-trimetylpentan), thích hợp để phân tích dư lượng.

11.3.2.1.4 Axit sulfuric, $c(H_2SO_4)$ = dung dịch từ 95 % đến 97 % phần khối lượng.

11.3.2.1.5 Axit clohydric (HCl), để bốc khói (ít nhất 37% phần khối lượng).

11.3.2.1.6 Kẽm clorua ($ZnCl_2$), dạng khan, ví dụ: Merck 8816¹¹⁾.

11.3.2.1.7 Chất nền rắn, để xử lý kiềm qui mô rất nhỏ (alumin kiềm).

Hoà tan 5 g kali hydroxit (KOH) dạng hạt trong 4 ml nước vào cốc thuỷ tinh có mỏ 400 ml. Thêm 50 g nhôm oxit 60 (11.3.2.1.1) với các lượng nhỏ trong khi vẫn khuấy kỹ bằng đũa thuỷ tinh. Chuyển sang bình 500 ml và lắc kỹ. Bảo quản trong bình hút ẩm cho đến khi sử dụng. Dung dịch này bền trên 6 tháng nếu được bảo quản khô.

11.3.2.1.8 Chất nền rắn, để khẳng định endrin (nhôm oxit axit).

Cẩn thận cho 5 ml axit sulfuric (11.3.2.1.4) vào 2,5 ml nước. Làm mát trước trong bể đá từ 20 min đến 30 min. Dùng chày để nghiền nhanh 50 g nhôm oxit 90 (11.3.2.1.2) có tính axit tinh khiết ở dạng đá lạnh trong cối cùng với axit sulfuric loãng. Chuyển hỗn hợp này sang bình thuỷ tinh đậy kín và lắc trong 2 h trong máy lắc. Để bình vẫn đậy kín vào bình hút ẩm. Chất nền rắn được chuẩn bị như vậy có giá trị sử dụng trên 1 năm.

11.3.2.1.9 Chất nền rắn, để khẳng định endosulfan (nhôm oxit có tính axit mạnh).

Làm lạnh 5 ml axit sulfuric đậm đặc (11.3.2.1.4) và 25 g nhôm oxit axit 90 đã tinh sạch (11.3.2.1.2) một cách riêng rẽ dưới zero trong khoảng 30 min. Trộn trong cối đã làm lạnh trước và nghiền nhanh cho đến khi thu được hỗn hợp dạng bột rời.

Bảo quản trong bình đậy kín khí để trong bình hút ẩm cho đến khi sử dụng.

11.3.2.1.10 Chất nền rắn, để khẳng định nhận biết dieldrin (nhôm oxit thấm đầy kẽm clorua và axit clohydric).

Cho 0,4 g kẽm clorua dạng khan (11.3.2.1.6) vào cốc có mỏ 100 ml. Thêm 0,8 ml axit clohydric (11.3.2.1.5) và khuấy nhanh bằng đũa thuỷ tinh cho đến khi chất rắn được hoà tan hết. Thêm 10 g nhôm oxit axit 90 (11.3.2.1.2) và trộn kỹ cho đến khi thu được hỗn hợp bột rời.

Bảo quản trong chai đậy kín. Cứ hai ngày thì chuẩn bị chất nền mới.

¹¹⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

11.3.2.2 Cách tiến hành

11.3.2.2.1 Kháng định DDT, TDE, metoxyclo, α -clorodan, heptaclo và heptaclo epoxit

Cho vào hai ống thủy tinh 10 ml, mỗi ống khoảng 1 g chất nền có tính kiềm (11.3.2.1.7). Cho vào một ống nghiệm một phần thích hợp của dịch chiết mẫu đã tinh sạch và cô đặc. Cho vào ống còn lại một phần dung dịch tiêu chuẩn chứa một lượng hợp chất clo hữu cơ giống như hợp chất đã dự đoán có trong dịch chiết mẫu.

Loại bỏ hết dung môi bằng cách thổi nhẹ một dòng không khí sạch hoặc làm ẩm nhẹ các ống. Trộn chất nền rắn khô bằng cách đặt hai ống lên máy rung hoặc trong bể siêu âm. Tra ở Bảng 2 về các điều kiện phản ứng và dung môi sử dụng để chiết các dẫn xuất khác nhau. Thêm 1 ml hoặc 2 ml dung môi thích hợp và chiết dẫn xuất bằng cách lắc mạnh hoặc đặt các ống nghiệm trong bể siêu âm 2 min. Để cho các hạt hấp phụ lắng xuống và bơm một phần chất lỏng nổi phía trên lên bộ sắc ký khí. Sự nhận biết các sản phẩm phản ứng, lượng có thể phát hiện nhỏ nhất của chúng và thời gian lưu tương đối được nêu trong Bảng 2.

Bảng 2 – Kháng định việc nhận biết hợp chất clo hữu cơ bằng sự tạo dẫn xuất trong chất nền rắn KOH/nhôm oxit

Hợp chất gốc	Nhận biết dẫn xuất	Thời gian phản ứng ở 80 °C h	Dung môi chiết	Lượng xấp xỉ tối thiểu có thể phát hiện được trong dịch chiết cuối cùng ng/2 ml	Thời gian lưu tương đối (aldrin = 1,00) trên 1,5 % OV-17/1,95 % cột QF-1	
					Hợp chất gốc	Dẫn xuất
<i>p,p'</i> -DDT	<i>p,p'</i> -DDE	1	Toluen	15	3,95	2,20
<i>o,p'</i> -DDT	<i>o,p'</i> -DDE	1	Toluen	50	3,07	1,80
<i>p,p'</i> -TDE	DDMU[1-clo-2-2-bis(4-clophenyl)etylen]	1	Toluen	50	3,26	1,80
<i>o,p'</i> -TDE	Olefin	1	Toluen	50	2,53	1,57
Metoxyclo	Olefin	1	Toluen	50	8,25	4,78
Heptaclo	1-Hydroxyclocloden	2	Etyl axetat	25	0,80	1,27
Heptaclo epoxit	1-Hydroxy-3-clo-cloden	2	Etyl axetat	25	1,51	2,50
α -Clodan	3-Clocloden	1,5	Axetat	15	1,80	1,20

Các hợp chất clo hữu cơ khác, tức là HCB, PCB, γ -clodan, aldrin, dieldrin và endrin giữ nguyên không đổi trong quá trình phản ứng. Các đồng phân HCH hoàn toàn bị phá vỡ thành các đồng phân triclobenzen, các đồng phân này rửa giải cùng với dung môi tạo pic trong suốt quá trình sắc ký khí lỏng.

Nếu có mặt một lượng HCH đáng kể, thì có thể quan sát thấy ba đồng phân triclobenzen bằng cách hạ nhiệt độ cột đến khoảng 110 °C. Các đồng phân 1,2,4- chiếm phần lớn.

11.3.2.2.2 Kháng định dư lượng endrin

Chuẩn bị các dẫn xuất như trong 11.3.2.2.1, sử dụng chất nền rắn như qui định trong 11.3.2.1.8. Sau khi đã loại dung môi và trộn xong các chất rắn, đập nút các ống nghiệm và để cho phản ứng xảy ra ít nhất 2 h hoặc để qua đêm ở nhiệt độ phòng. Thêm 1 ml hoặc 2 ml toluen. Chiết dẫn xuất và phân tích bằng sắc ký khí lỏng như trong 11.3.2.2.1 sử dụng cột 1,5 % OV-17/1¹²⁾, 95% QF-1.

Dẫn xuất keton hexaclopentacyclic có thời gian lưu tương đối (với aldrin = 1,00) là 7,9 trên cột 1,5 % OV-17/1¹²⁾, 95 % QF-1¹²⁾ và 30,7 trên 2 % dietylen glycol succinat (DEGS) + 0,5 % H₃PO₄.

11.3.2.2.3 Kháng định dư lượng endosulfan

Chuẩn bị các dẫn xuất như trong 11.3.2.2.1, sử dụng chất nền rắn như qui định trong 11.3.2.1.10 (nhôm oxit có tính axit mạnh). Đun nóng chất nền rắn đã tẩm ở nhiệt độ 95 °C trong 1 h.

Để nguội và thêm 2 ml toluen vào cả hai ống nghiệm. Đập nắp và lắc mạnh 1 min để chiết chất đã được phản ứng và phân tích chất lỏng nổi phía trên bằng sắc ký khí lỏng.

Endosulfan đã nhận biết được kháng định nếu sắc đồ của dịch chiết mẫu đã phản ứng cho thấy không có mặt các pic đã quan sát thấy trước đó ứng với các đồng phân của α - và β - và dạng bên ngoài của pic endosulfan ete lớn cũng có mặt trên sắc đồ của dung dịch chuẩn đã xử lý theo cách tương tự. Thời gian lưu tương đối (với aldrin = 1,00) của endosulfan ete là 0,77 trên cột 1,5 % OV-17/1¹²⁾, 95 % QF-1¹²⁾ và 1,32 trên cột 2 % DEGS + 0,5 % H₃PO₄.

11.3.2.2.4 Kháng định dư lượng dieldrin

Tương tự như qui trình nêu trong 11.3.2.2.1, chuẩn bị các dẫn xuất dieldrin trong chất nền rắn thích hợp (11.3.2.1.10) ở 120 °C trong 30 min. Chiết dẫn xuất bằng toluen và phân tích bằng sắc ký khí lỏng.

Dieldrin đã nhận biết được kháng định nếu sắc đồ của dịch chiết mẫu đã phản ứng cho thấy không có mặt dieldrin đã quan sát thấy trước đó và dạng ngoài pic của dẫn xuất (aldrin clorohydrin) cũng có mặt trên sắc đồ của dung dịch chuẩn đã xử lý đồng thời.

¹²⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 7082-2:2010

Thời gian lưu tương đối (với aldrin = 1,00) của aldrin clohydrin là 5,35 trên cột 1,5 % OV-17/1, 95 % QF-1¹²).

Các thuốc bảo vệ thực vật khác không gây nhiễu. Các đồng phân của HCH, HCB, PCB, heptaclo epoxit, các đồng phân của clodan, *p,p'*-DDE và *p,p'*-TDE giữ nguyên không đổi. Endrin được chuyển thành hợp chất keton, chất này rửa giải tiếp dẫn xuất dieldrin. Heptaclo tạo ra sản phẩm phản ứng với thời gian lưu giống như thời gian lưu của hidroxycloclodan, trong khi *p,p'*-DDT lại chuyển thành *p,p'*-DDE trên cột OV-17/1¹²/QF-1¹²). Tuy nhiên, tốc độ chuyển hoá ít khi cao hơn 50%.

11.3.3 Khẳng định việc nhận biết các dư lượng hexaclorobenzen (HCB)

11.3.3.1 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

11.3.3.1.1 Dầu nhẹ, đạt chất lượng để phân tích dư lượng.

11.3.3.1.2 Thuốc thử metoxyl hoá

Hoà tan 4 g natri hydroxit trong 25 ml metanol, dùng bộ khuấy từ. Thêm từ từ 50 ml pyridin tinh khiết (được chưng cất qua kali hydroxit). Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

11.3.3.1.3 Natri sulfat (Na_2SO_4) khan, dạng hạt.

11.3.3.2 Cách tiến hành

Cho một thể tích thích hợp dịch chiết mẫu đã tinh sạch vào bình cầu đáy tròn 50 ml và cô đặc đến khoảng 2 ml. Thêm 5 ml thuốc thử metoxyl hóa (11.3.3.1.2). Đậy chặt nắp bình và làm nóng đúng 20 min trên nồi cách thủy ở nhiệt độ 50 °C.

Làm mát dưới dòng nước chảy và chuyển lượng hỗn hợp phản ứng sang phễu chiết 125 ml, dùng 30 ml dầu nhẹ (11.3.3.1.1). Thêm 20 ml nước, lắc mạnh 1 min và chuyển pha lỏng phía dưới sang phễu chiết thứ hai. Chiết lại hai lần bằng 15 ml dầu nhẹ. Gộp các dịch chiết dầu nhẹ và rửa bốn lần, mỗi lần dùng 15 ml nước.

Làm khô dịch chiết bằng natri sulfat khan (11.3.3.1.3) và đưa về một thể tích thích hợp và phân tích bằng sắc ký khí lỏng.

Xử lý một phần thích hợp của dung dịch tiêu chuẩn HCB theo cách tương tự.

Kiểm tra các dịch chiết đã phản ứng bằng sắc ký khí lỏng. Hợp chất có thời gian lưu của pentacloanisol sẽ được quan sát trong cả hai dịch chiết nếu HCB có mặt trong dịch chiết mẫu.

11.4 Phép thử khẳng định D: Thay đổi quang hoá

11.4.1 Yêu cầu chung

Xem tài liệu tham khảo [22].

Có thể rọi ánh sáng cực tím ở bước sóng 254 nm để khẳng định các dư lượng aldrin, γ -clodan, dieldrin, endrin, hexaclobenzen và heptaclo epoxit trong số các loại khác. Việc thay đổi trong sắc đồ do việc rọi là đặc trưng cho các hợp chất liên quan.

11.4.2 Thiết bị, dụng cụ

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

11.4.2.1 Ống thủy tinh, dài 53 mm và đường kính trong 8 mm.

11.4.2.2 Đèn thủy ngân, có bước sóng chính 254 nm (ví dụ, "Pen-Ray"¹³⁾, Agpe 11 8c-1¹³⁾, 5,5 W hoặc tương đương).

11.4.2.3 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

11.4.3 Cách tiến hành

Chuyển 1 ml dịch chiết đã tinh sạch trong dầu nhẹ vào ống nghiệm thủy tinh (11.4.2.1) và đặt ống nghiệm vào nồi cách thủy (11.3.2.3). Đặt đèn cực tím (11.4.2.2) vào dung dịch và rọi từ 5 min đến 10 min. Pha loãng một lần nữa đến 1 ml, nếu cần, và bơm 5 μl dung dịch theo cách tương tự như trước khi rọi. So sánh các sắc ký khí thu được trước và sau khi rọi.

12 Quy trình tinh sạch bổ sung

CHÚ THÍCH: Quy trình tinh sạch bổ sung trên alumin đã phủ bạc nitrat được khuyến cáo để loại bỏ các chất gây nhiễu gặp phải trong quá trình phân tích phomat có hương vị tỏi.

12.1 Nguyên tắc

Dịch chiết đã hấp phụ được tinh sạch bằng sắc ký trên cột nhôm oxit phủ bạc nitrat.

12.2 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có qui định khác.

¹³⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 7082-2:2010

12.2.1 Nhôm oxit (Al_2O_3) trung tính (Merck số 1077¹³) hoặc tương đương).

Nung ở 550 °C trong 4 h. Để nguội rồi cho thêm 7 phần nước vào 93 phần nhôm oxit (theo thể tích) và lắc mạnh cho đến khi nước đã được hấp thụ hoàn toàn và được phân bố đồng đều.

12.2.2 *n*-hexan [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$], đạt chất lượng phân tích dư lượng.

12.2.3 Chất hấp phụ sắc ký. Hoà tan 0,75 g bạc nitrat (AgNO_3) trong 0,7 ml nước. Đun nóng và cho thêm từ từ 4 ml axeton (CH_3COCH_3). Trộn nhanh dung dịch với 10 g nhôm oxit (12.2.1). Loại bỏ axeton bằng dòng khí nitơ.

12.3 Thiết bị, dụng cụ

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

12.3.1 Cột sắc ký, dài 150 mm và đường kính trong 8 mm, có van khoá PTFE.

12.3.2 Bộ cô quay (Kuderna-Danish²) hoặc loại tương đương) có bình cầu dung tích 100 ml và được gắn với ống chia độ.

12.4 Cách tiến hành

Đặt nút sợi bông hoặc bông thủy tinh vào đáy cột sắc ký (12.3.1) và rót 5 ml *n*-hexan (12.2.2) lên cột (12.3.1), giữ vòi ở trạng thái khoá. Trộn 2 g chất hấp phụ (12.2.3) và 10 ml *n*-hexan trong bình 100 ml. Rót huyền phù này lên cột và rửa sạch bình để chuyển hết hỗn hợp. Cho *n*-hexan chảy đến mức 10 mm cao hơn đỉnh chất hấp phụ trong cột và loại bỏ dịch rửa giải. Cho lên cột 1,0 ml dịch chiết cô đặc thu được bằng qui trình tinh sạch chính.

Rửa giải bằng 20 ml *n*-hexan với tốc độ dòng không quá 3 ml/min cho vào bình cô quay 100 ml (12.3.2). Cô dịch rửa giải đến khi thể tích còn từ 2 ml đến 3 ml bằng bộ cô quay (12.3.2) và cho dung dịch bay hơi đến chính xác 1,0 ml bằng dòng khí nitơ. Dịch chiết đã tinh sạch này thích hợp cho phép phân tích sắc ký khí lỏng.

Trong suốt qui trình, heptaclo tạo ra dẫn xuất có thời gian lưu giống với thời gian lưu của aldrin trên một số cột sắc ký khí lỏng nhất định.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] GUNTHER, F.A., BUNN, R.C., KOLBEZEN, M.J., BARKLEY, J.H., HARRIS, W.D., SIMON, H.S. Microestimation of 2-(p-fert-butylphenoxy)isopropyl-2-chloroethyl sulfite residues. *Anal. Chem.* 1951, 23, pp. 1835-1842
- [2] BURKE, J.A., MILLS, P.A., BOSTWICK, D.C. Experiments with the evaporation of solutions of chlorinated pesticides. *J. AOAC* 1966, 49, p. 999-1003
- [3] HORWITZ, W. (ed.). *Official methods of analysis of the AOAC*, 12th edition¹⁴⁾, pp. 518-525. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 1975
- [4] DE FAUBER MAUNDER, M.J., EGAN, H., GODLY, E.W., HAMMOND, E.V., ROBURN, J., THOMSON, J. Clean-up of animal fats and dairy products for the analysis of chlorinated pesticide residues. *Analyst* 1964, 89, pp. 168-174
- [5] BRO-RASMUSSEN, F., RODIN, F., VOLDUM-CLAUSEN, K. Überprüfung einer gaschromatographischen Methode zur Bestimmung chlorierter Insektizide in Butter and pflanzlichen Erzeugnissen [Review of a gas chromatography method for the determination of chlorinated insecticides in butter and vegetable products]. 2. *Lebensmittel Untersuch. -Forsch.* 1968, **138**, pp. 276-284
- [6] SPECHT, W. Untersuchung von Lebensmitteln auf Pestizidrückstände (Gaschromatographische Methode zur gleichzeitigen Bestimmung von Rückständen der Organochlor- und Organophosphor-Pestizide) [Investigation of pesticide residues in food (gas chromatography method for the simultaneous regulation of residues of organochlorine and organophosphorus pesticides)]. Working paper, 1974
- [7] TELLING, G.M., SISSONS, D.J. Determination of organochlorine insecticide residues in fatty foodstuffs using a clean-up technique based on a single column of activated alumina. *J. Chromatogr.* 1977, **137**, p. 405-423
- [8] GREVE, P.A., GREVENSTUK, W.B.F. A convenient small-scale clean-up method for extracts of fatty samples with basic alumina before GLC-analysis on organochlorine pesticides residues. *Mededeling Fak. Landbouwwetenschap.* (Ghent) 1975, **40**, pp. 1115-1124
- [9] STIJVE, T., CARDINALS, E. Rapid determination of chlorinated pesticides, polychlorinated biphenyls and a number of phosphated insecticides in fatty foods. *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.* 1974, 65, pp. 131-150
- [10] LANGLOIS, B.E., STEMP, A.R., LISKA, B.J. Insecticide residues— Rapid cleanup of dairy products for analysis of chlorinated insecticide residue by electron capture gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 1964, 12, pp. 243-245
- [11] STIJVE, T., BRAND, E. A rapid, low cost, small-scale clean-up method for the determination of organochlorine pesticide residues in fats and oils. *Deutsche Lebensm. Rundschau* 1977, **73**, pp. 41-42
- [12] STEINWANDTER, H. Beiträge zur Verwendung von Kieselgel in der Pestizidanalytik: II. Analytik und Kapillar-Gas-Chromatographie von p-HCH and anderen Chlorkohlenwasserstoff-Pestiziden [Contribution to the use of silicagel in pesticide analysis— II: Analysis and capillary gas chromatography of p-HCH and other chlorinated hydrocarbon pesticides]. *Fresen. Z. Anal. Chem.* 1980, **304**, pp. 137-140
- [13] Steinwandter, H. Contribution to silica gel application in pesticide residue analysis: III — An on-line method for extracting and isolating chlorinated hydrocarbon pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs) from milk and dairy products. *Fresen. Z. Anal. Chem.* 1982, 312, pp. 342-345
- [14] Grob, K., Grob, G. Methodik der Kapillar-Gas-Chromatographie— Hinweise zur vollen Ausnutzung hochwertiger Säulen — I. Teil: Die Direkteinspritzung [Techniques of capillary gas chromatography — Possibilities of the full utilization of high-performance columns — Part I: Direct sample injection]. *Chromatographia* 1972, 5, pp. 3-12

¹⁴⁾ Đã được xuất bản lần thứ 18, 2004 – xem <http://eoma.aoac.org>

- [15] van den Berg, P.M.J., Cox, T.P.H. An all-glass solid sampling device for open tubular columns in gas chromatography. *Chromatographia* 1972, 5, pp. 301-305
 - [16] Tuinstra, L.G.M.T., Traag, W.A. Automated glass capillary gas chromatography analysis of PCB and organochlorine pesticide residues in agricultural products. *J. High Resol. Chromatogr. Chromatogr. Commun.* 1979, 2, pp. 723-728
 - [17] Chau, A.S.Y., Lanouette, M. Confirmation of pesticide residue identity: II— Derivative formation in solid matrix for the confirmation of DDT, DDD, methoxychlor, perthane, cis- and trans-chlordane, heptachlor, and heptachlor epoxide pesticide residues by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1972, 55, pp. 1058-1066
 - [18] Chau, A.S.Y. Confirmation of pesticide residue identity: 3 — Derivative formation in solid matrix for the confirmation of endrin by gas chromatograph. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 1972, 8, pp. 169-176
 - [19] Chau, A.S.Y. Confirmation of pesticide residue identity. V. Alternative procedure for derivative formation in solid matrix for the confirmation of alpha- and beta-endosulfan by gas chromatography. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 1972, 55, pp. 1232-1238
 - [20] WIENCKE, W.W., BURKE, J.A. *J. AOAC* 1969, 52, pp. 1277-1280
 - [21] Zimmerli, B., Marek, B. Entwicklung einer gaschromatographischen Bestimmungs- und Bestätigungsmethode für Hexachlorbenzolrückstände in Fetten und Ölen [Development of a gas chromatographic regulation and confirmation method for hexachlorobenzene residues in fats and oils]. *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.* 1972, 63, pp. 273-289
 - [22] Mansour, M., Parlar, H. Gas chromatographic determination of several cyclodiene insecticides in the presence of polychlorinated biphenyls by photoisomerization reactions. *J. Agric. Food Chem.* 1978, 26, pp. 483-485
-