

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7082-1:2010

ISO 3890-1:2009

Xuất bản lần 2

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG
HỢP CHẤT CLO HỮU CƠ (THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT) –
PHẦN 1: XEM XÉT CHUNG VÀ PHƯƠNG PHÁP CHIẾT**

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

Part 1: General considerations and extraction methods

HÀ NỘI – 2010

Lời nói đầu

TCVN 7082-1:2010 thay thế TCVN 7082-1:2002;

TCVN 7082-1:2010 hoàn toàn tương đương với ISO 3890-1:2009/IDF 75-1:2009;

TCVN 7082-1:2010 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 1: Xem xét chung và phương pháp chiết**

*Milk and milk products – Determination of residues of organochlorine compounds (pesticides) –
Part 1: General considerations and extraction methods*

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 đưa ra được 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 đưa ra các xem xét chung và qui định các phương pháp chiết để xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ trong sữa và sản phẩm sữa.

Phụ lục A quy định phương pháp chiết các sản phẩm có hàm lượng chất béo cao.

Phụ lục B đưa ra hướng dẫn cho các phép phân tích khi có mặt biphenyl polyclo hoá (PCB).

Các phương pháp này có thể áp dụng cho: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, aldrin/dieldrin, heptaclo và heptacloepoxit, các chất đồng phân của DDT, DDE, TDE, clodan và oxy-clodan, endrin. Các phương pháp cụ thể có thể áp dụng cho δ -ketoendrin và HCB.

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 7082-1:2010

TCVN 3890-2 (ISO 3890-2), *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.*

TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.*

TCVN 6910-2 (ISO 5725-2), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

Hàm lượng các hợp chất clo hữu cơ (contents of organochlorine compounds):

Phần khối lượng của các chất xác định được bằng các qui trình quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH: Hàm lượng các hợp chất clo hữu cơ được biểu thị bằng miligam trên kilogam chất béo hoặc theo chất khô của sản phẩm (đối với các sản phẩm có hàm lượng chất béo thấp).

4 Nguyên tắc

CHÚ THÍCH: Các phương pháp này dựa trên quy trình bốn giai đoạn; đôi khi hai giai đoạn có thể được kết hợp toàn bộ hoặc từng phần.

Các dư lượng trong chất nền mẫu được chiết bằng dung môi thích hợp, sao cho thu được tối đa của dịch chiết phần dư lượng và lượng tối thiểu các chất khác bị chiết cùng mà có thể gây nhiễu cho phép xác định.

Loại bỏ các chất gây nhiễu ra khỏi dịch chiết để thu được dung dịch chiết chứa phần dư lượng trong dung môi thích hợp cho việc kiểm tra định lượng bằng phương pháp đã chọn.

Hàm lượng các hợp chất clo hữu cơ được xác định bằng phương pháp sắc ký khí lỏng (GLC) có detector bắt giữ điện tử.

Khẳng định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật đã nhận biết được, đặc biệt trong những trường hợp dư lượng thuốc bảo vệ thực vật vượt quá mức tối đa cho phép.

Sự gây nhiễu của các hợp chất PCB và thuốc bảo vệ thực vật là vấn đề thường gặp đối với các cột nhồi và mức độ ảnh hưởng ít hơn đối với các cột mao quản. Đối với các mức PCB tương đối cao, thì nên xác định PCB theo TCVN 8101 (ISO 8260)^[6].

Khả năng áp dụng của các phương pháp khác nhau được nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Khả năng áp dụng của các phương pháp đối với các hợp chất khác nhau

Phương pháp	α -HCH ^a	β -HCH ^a	γ -HCH ^a	Aldrin/ dieldrin	Heptaclo Heptaclo epoxit	DDT ^b DDE ^c TDE ^d Izome	Clodan Oxy- clodan	Endrin	δ - keto- endrin	HCB ^e
A	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
C	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
E	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Ký hiệu: + có khả năng áp dụng

- không có khả năng áp dụng

- a HCH = 1,2,3,4,5,6-hexacloxylohexan
b DDT = 1,1,1-triclo-2,2-bis(4-clophenyl)etan
c DDE = 1,1-diclo-2,2-bis(4-clophenyl)etylen
d TDE = 1,1-diclo-2,2-bis(4-clophenyl)etan
e HCB = hexaclobenzen.

5 Yêu cầu đối với thuốc thử và vật liệu

5.1 Yêu cầu chung

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác. Chưng cất lại nước và các dung môi sử dụng và kiểm tra độ tinh khiết của chúng (xem 5.2). Giới hạn tạp chất của mỗi loại thuốc thử sử dụng không được vượt quá giới hạn quy định trong 14.4. Tuy nhiên, tổng lượng tạp chất của tất cả các thuốc thử sử dụng trong phương pháp có thể lớn hơn giới hạn này. Tinh sạch và định kỳ hoạt hoá các chất hấp phụ theo các yêu cầu của các phương pháp phân tích khác nhau. Kiểm tra độ tinh khiết của chúng (xem 5.2.5).

Chú ý không để nước, các dung môi, các chất hấp phụ v.v... bị nhiễm bẩn bởi các vật liệu bằng chất dẻo hoặc cao su.

Bảo quản tất cả các thuốc thử, chất hấp phụ v.v ... đã được tinh sạch trong chai hoặc lọ thủy tinh có nắp thủy tinh hoặc nút polytetrafluoroetylen (PTFE). Không để chúng ngoài không khí sau khi đã tinh sạch. Trong nhiều trường hợp, các lá nhôm được rửa bằng axeton có khả năng bảo vệ thích hợp.

5.2 Kiểm tra độ tinh khiết của thuốc thử

5.2.1 Dung môi. Cô đặc các dung môi với hệ số tương ứng trong phương pháp được sử dụng. Kiểm tra độ tinh khiết bằng phương pháp sắc ký khí lỏng (GLC) (xem 6.2). Sắc đồ không được có tín hiệu của bất kỳ tạp chất nào với nồng độ vượt quá giới hạn xác định theo 14.4. Chiết hoặc cô đặc axetonitril, dimethylformamit (DMF) và metylen clorua đến các thể tích giống như đã sử dụng trong phương pháp này và kiểm tra các dung dịch tạo thành bằng sắc ký khí.

5.2.2 Nước. Chiết 10 phần thể tích nước với 1 phần thể tích *n*-hexan hoặc dầu nhẹ. Tách pha hữu cơ. Cô đặc với hệ số tương ứng trong phương pháp sử dụng và kiểm tra độ tinh khiết bằng phương pháp GLC (xem 6.2). Sắc đồ không được có tín hiệu của bất kỳ tạp chất nào với nồng độ vượt quá giới hạn xác định theo 14.4.

5.2.3 Muối vô cơ. Dùng *n*-hexan hoặc dầu nhẹ để chiết các muối vô cơ (ví dụ: natri clorua), sau khi đã tinh sạch theo các yêu cầu của các phương pháp phân tích khác nhau và tất cả các dung dịch lỏng được sử dụng. Cô đặc dịch chiết với hệ số tương ứng trong phương pháp sử dụng và thử nghiệm bằng sắc ký khí lỏng (GLC) (xem 6.2). Sắc đồ không được có tín hiệu của bất kỳ tạp chất nào với nồng độ vượt quá giới hạn xác định theo 14.4.

5.2.4 Bông vải, bông thủy tinh và bông thạch anh. Sử dụng bộ chiết Soxhlet để chiết các chất này bằng *n*-hexan và axeton cho đến khi chúng không còn chứa các chất gây nhiễu.

5.2.5 Chất hấp phụ. Rửa giải một lượng chất hấp phụ đúng bằng lượng được sử dụng trong phương pháp phân tích và thể tích hỗn hợp dung môi tương ứng. Cô đặc dịch rửa giải theo hướng dẫn của phương pháp phân tích và kiểm tra độ tinh khiết bằng phương pháp GLC (xem 6.2). Sắc đồ không được có tín hiệu của bất kỳ tạp chất nào với nồng độ vượt quá giới hạn xác định theo 14.4. Thường xuyên kiểm tra hoạt tính của các chất hấp phụ.

5.2.6 Dung dịch chuẩn. Sử dụng các vật liệu có độ tinh khiết ít nhất 95 % phần khối lượng để chuẩn bị các dung dịch chuẩn dùng cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật.

Nếu được bảo quản ở -20 °C thì nhìn chung chúng có thể bền trong 1 năm đến 2 năm. Các dung dịch gốc có nồng độ 1 mg/ml, được bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ khoảng 4 °C thường bền trong vòng từ 2 tháng đến 3 tháng. Chuẩn bị các dung dịch pha loãng mới từng ngày.

CHÚ THÍCH: Sự thay đổi thể tích do dung môi bay hơi, ví dụ qua những khe hở giữa nắp và cổ bình, có thể là một nguyên nhân gây ra sai số.

Bảo quản các dung dịch chuẩn trong các lọ thủy tinh trong tủ lạnh và tránh sự nhiễm bẩn có thể xảy ra do các vật liệu bằng chất dẻo hoặc cao su. Không để các dung dịch chuẩn tiếp xúc với ánh sáng mặt trời hoặc tia cực tím trong thời gian dài. Có thể sử dụng phương pháp phổ khối lượng và sắc ký khí - lỏng để kiểm tra độ nhiễm bẩn của các chất chuẩn dùng trong phân tích. Kinh nghiệm cho thấy rằng

các sai sót trong quá trình chuẩn bị, xử lý và bảo quản các chất chuẩn và dung dịch chuẩn là những nguyên nhân chính gây ra sai số.

6 Yêu cầu đối với thiết bị, dụng cụ

6.1 Yêu cầu chung. Làm sạch kỹ tất cả các dụng cụ thủy tinh được dùng trong phép phân tích dư lượng. Có thể dùng dung dịch axit cromic hoặc axit sunphuric nóng để làm sạch. Nếu sử dụng các dung dịch này, cần rửa sạch các dụng cụ thủy tinh, sau đó tráng lại bằng nước cất và axeton trước khi sấy khô. Ngay trước khi dùng, phải tráng lại các dụng cụ thủy tinh này bằng dung môi được sử dụng.

Không sử dụng các loại nút bằng chất dẻo thông thường [ví dụ: nhựa poly(vinyl clorua) (PVC)] cho các bình chứa các chất chuẩn vì chúng có thể làm nhiễm bản chất chuẩn. Cần dùng nút bằng thủy tinh hoặc polytetrafloroetylen (PTFE). Tương tự, không dùng phễu chiết có nút hoặc van khoá bằng chất dẻo. Chai rửa phải bằng thủy tinh. Thay các nút thông thường bằng các nút thủy tinh hoặc nút PTFE.

Hầu hết các phương pháp đều quy định các loại cột sắc ký riêng, chúng được chế tạo đặc biệt và có khoá bằng thủy tinh hoặc PTFE. Tại đỉnh các cột sắc ký này phải có các khớp nối bằng thủy tinh mài để nối với bình chứa dung môi hoặc bộ phận điều chỉnh áp lực. Đôi khi, khớp nối thủy tinh mài ở phía dưới vòi cũng có thể có tác dụng trong việc ứng dụng sức hút khí dùng bình Buchner thích hợp.

Có thể sử dụng hai loại thiết bị cô dung môi. Loại thứ nhất, là thiết bị cô quay Kuderna - Danish¹⁾ (hoặc tương tự), (xem tài liệu tham khảo [13]), thiết bị này có thể có hoặc không có cột phân đoạn và được gia nhiệt trên nồi hơi. Loại thứ hai, là các loại thiết bị cô quay màng mỏng (có bán sẵn trên thị trường), loại thiết bị này cần có nguồn chân không, tốt nhất là bơm chân không sử dụng nước và có thể gia nhiệt đến nhiệt độ trên 50 °C. Cần kiểm tra định kỳ ảnh hưởng của các loại thiết bị cô dung môi về sự thất thoát các thuốc bảo vệ thực vật dễ bay hơi. Có thể sử dụng "chất hãm" (propylen glycol, *n*-undecan hoặc hexadecan) để giảm thiểu sự thất thoát thuốc bảo vệ thực vật.

Nếu sử dụng các thiết bị đồng hoá, chú ý đảm bảo rằng các thiết bị này không bị nhiễm bẩn. Kiểm tra bộ phận đáy truyền động để phát hiện các khe hở xung quanh đĩa này. Các mối làm kín có thể là một nguồn gây nhiễm bẩn.

Các ống hình côn gắn với các khớp nối thủy tinh mài chuẩn 14 mm và có dung tích khoảng 15 ml (nghĩa là dài từ 80 mm đến 90 mm) cần cho các giai đoạn cô đặc cuối cùng. Các ống này được gắn khít với các cột micro-Snyder¹⁾ (xem tài liệu tham khảo [14]). Các dung dịch thường được giảm đến thể tích nhỏ cuối cùng bằng cách thổi một luồng không khí hoặc khí nitơ. Không dùng các ống bằng cao su hoặc chất dẻo PVC cho mục đích này: ống PTFE hoặc nylon thường cho thấy ít có nguy cơ bị nhiễm bẩn nhất.

¹⁾ Đây là các ví dụ về các sản phẩm phù hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng phần tiêu chuẩn này, còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 7082-1:2010

Có thể làm sạch giấy lọc bằng dung môi, nếu cần.

Bồn hơi và nồi cách thủy cũng cần có giá đỡ tương thích với các thiết bị được sử dụng.

Đôi khi cần sử dụng cả máy ly tâm có khả năng xử lý khoảng vài trăm mililit như tương với tần số quay từ 2000 r/min đến 4000 r/min.

6.2 Thiết bị sắc ký khí lỏng (GLC). Cần sử dụng hệ thống sắc ký khí lỏng thích hợp, tốt nhất được trang bị các bộ gia nhiệt riêng cho bơm, detector và lò cột. Nhìn chung, thiết bị bơm mẫu trực tiếp lên cột sắc ký khí lỏng (GLC) là thích hợp nhất. Cho dù sự lựa chọn các bộ phận khác nhau trong hệ thống sắc ký khí lỏng GLC phụ thuộc vào kinh nghiệm của người phân tích, nhưng cũng cần xem xét khuyến cáo sau đây:

a) Các detector bắt giữ electron (^3H , ^{63}Ni) được chứng minh là phù hợp nhất để xác định các hợp chất clo hữu cơ. Chỉnh các detector theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Định kỳ kiểm tra sự lệch độ nhạy của detector bằng cách kiểm tra độ tuyến tính của đồ thị hiệu chuẩn dùng các dung dịch chuẩn thuốc bảo vệ thực vật (xem 5.2.6). Không dùng các detector ^3H nếu yêu cầu nhiệt độ trên 225 °C.

b) Tốt nhất là dùng các cột silica nung chảy hoặc cột thủy tinh dài từ 1,5 m đến 3 m và đường kính trong từ 2 mm đến 6 mm.

c) Sử dụng các vật liệu phụ trợ thích hợp, có chất lượng tốt. (Các vật liệu phụ trợ thích hợp như Gaschrom Q²⁾, Chromosorb W-HP²⁾, Anachrom Q²⁾ trong phạm vi cỡ 60/80, 80/100 và 100/120 mesh đã được ứng dụng có hiệu quả).

d) Nhiều pha tĩnh và các hỗn hợp pha tĩnh được sử dụng có hiệu quả phụ thuộc vào lượng và chủng loại thuốc bảo vệ thực vật clo hữu cơ, ví dụ:

- hydrocacbon: Apiezon L²⁾
- metylsilicon: DC-11²⁾, DC-200²⁾, OV-1²⁾, QC-101²⁾, SP-2100²⁾, SE-30²⁾
- metylphenylsilicon: OV-17²⁾, OV-61²⁾, OV-25²⁾, SP-2250²⁾, SE-52²⁾
- trifloropropylmetylsilicon: QF-1²⁾, OV-210²⁾, SP-2401²⁾
- phenylxanopropylmetylsilicon: OV-225²⁾, XE-60²⁾

Làm lắng cẩn thận các pha tĩnh trên cột phụ, tỷ lệ pha tĩnh phụ thuộc vào sự kết hợp vật liệu phụ trợ và kết hợp pha được chọn. Trong mọi trường hợp, ổn định các cột mới nhờ đầy ít nhất 24 h ở nhiệt độ gần với nhiệt độ tương thích tối đa của loại pha tĩnh được sử dụng. Kiểm tra hiệu quả và tính chọn lọc của chúng tại nhiệt độ hoạt động yêu cầu, sử dụng hỗn hợp chuẩn của các hợp chất clo hữu cơ.

²⁾ Đây là các ví dụ về các sản phẩm phù hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng phần tiêu chuẩn này, còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

Sắc ký khí mao quản là một kỹ thuật quan trọng có khả năng chiết tách tốt hơn so với các cột nhồi. Kỹ thuật mao quản được khuyến nghị sử dụng đặc biệt đối với các chất chiết phức tạp. Tuy nhiên, hết sức chú ý khi sử dụng các ống mao quản thủy tinh đã khử hoạt tính, mặt khác, với mức nồng độ picogram, thì các hợp chất quan tâm sẽ bị thất thoát do bị hấp phụ lên bề mặt thủy tinh. Để tránh hiện tượng này, nên sử dụng cột silica nung chảy.

Sử dụng nitơ khô, tinh khiết (không chứa oxy, khi sử dụng detector bắt giữ electron), hoặc hỗn hợp khí argon/metan (khi dùng detector hóa điện dạng xung) dùng làm khí mang cho các cột nhồi, với tốc độ dòng phụ thuộc vào cỡ và kiểu loại cột sử dụng. Kiểm soát tốc độ dòng theo các đặc tính của cột và detector. Nhìn chung, phải đảm bảo tốc độ dòng khí được kiểm soát càng chính xác càng tốt [\pm (0,5 đến 1,0) % tốc độ dòng khí]. Lắp các bộ lọc rây phân tử trong các mạch nguồn và định kỳ phục hồi chúng. Nói tóm tắt, cần đảm bảo các điều kiện của sắc ký khí lỏng (GLC) (nghĩa là chiều dài cột, loại pha tĩnh, bộ bơm, detector, nhiệt độ cột và tốc độ dòng khí .v.v...) sao cho việc tách các hợp chất clo hữu cơ càng gần với lượng thực có mặt càng tốt.

7 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện. Mẫu không bị hỏng hoặc biến đổi trong quá trình vận chuyển và bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707)⁽¹⁾.

8 Chuẩn bị mẫu thử

8.1 Sữa

Điều chỉnh nhiệt độ của mẫu thử đến khoảng từ 35 °C đến 40 °C, sử dụng nồi cách thủy, nếu cần. Trộn kỹ mẫu thử nhẹ nhàng bằng cách đảo chiều hộp chứa mẫu thử nhiều lần mà không tạo bọt hoặc đánh kem và làm nguội nhanh đến nhiệt độ khoảng 20 °C.

8.2 Sữa cô đặc

Lắc và đảo chiều hộp chứa. Mở nắp hộp, rót từ từ mẫu thử sang hộp chứa thứ hai (có nắp đậy kín khí) và trộn đều bằng cách chuyển qua chuyển lại mẫu thử, chú ý không để chất béo hay bất kỳ thành phần nào khác của mẫu sót lại trên thành và đáy của hộp thử nhất. Cuối cùng, chuyển càng triệt để mẫu càng tốt sang hộp chứa thứ hai.

Trường hợp mẫu thử đựng trong các hộp kín, thì đặt các hộp chứa mở này trong nồi cách thủy ở nhiệt độ khoảng từ 40 °C đến 60 °C, nếu cần. Cứ 15 min, lấy hộp ra và lắc mạnh. Sau 2 h, lấy hẳn hộp ra và để nguội đến nhiệt độ phòng. Mở hẳn nắp hộp, dùng thìa hoặc dao trộn để trộn kỹ mẫu đựng trong hộp.

8.3 Sữa đặc có đường

Mở nắp hộp chứa và trộn kỹ lượng chứa trong hộp bằng thìa hoặc dao trộn. Vừa lắc vừa tạo chuyển động lên-xuống sao cho các lớp trên cùng với các phần ở góc và đáy hộp được trộn lẫn với nhau. Không để chất béo hoặc bất kỳ thành phần nào khác của mẫu sót lại trên thành và đáy của hộp. Chuyển càng triệt để mẫu càng tốt sang hộp chứa thứ hai (có nắp đậy kín khí). Đậy nắp hộp.

Trường hợp mẫu thử được đựng trong các hộp kín, đặt các hộp chưa mở này trong nồi cách thủy ở nhiệt độ khoảng từ 30 °C đến 40 °C, nếu cần. Mở nắp hộp, chuyển toàn bộ lượng sữa bên trong ra đĩa có kích thước đủ rộng để có thể trộn được kỹ, rồi trộn cho đến khi đồng nhất.

Trường hợp mẫu thử đựng trong các ống có thể gấp lại được, thì mở ống và chuyển mẫu thử sang một bình chứa. Sau đó cắt mở ống, vét toàn bộ lượng mẫu còn dính lại trong ống vào bình chứa.

8.4 Sản phẩm sữa bột

Trộn kỹ mẫu thử bằng cách quay và đảo ngược vật chứa mẫu nhiều lần. Chuyển toàn bộ mẫu thử vào một vật chứa kín khí có dung lượng đủ lớn, nếu cần.

8.5 Bơ và butterfat

Làm nóng mẫu thử đến khoảng 60 °C cho đến khi chất béo tách ra. Gạn mẫu qua nút bông thủy tinh vào phễu thủy tinh đã được làm nóng trước.

8.6 Phomat

Tách chất béo ra khỏi mẫu thử theo quy định trong TCVN 7082-2 (ISO 3890-2).

8.7 Các sản phẩm sữa khác

Đảm bảo rằng mẫu thử đã đồng nhất.

9 Cách tiến hành

9.1 Yêu cầu chung

Những người thực hiện phải tự làm quen với phương pháp phân tích trước khi bắt đầu phân tích. Cho chạy các phép thử trắng cho đến khi các thuốc thử đáp ứng được các yêu cầu.

Đồng thời tiến hành các thử nghiệm phục hồi "bổ sung chuẩn" ở các mức phù hợp với mức cho phép tối đa cho đến khi chúng thoả mãn các yêu cầu (xem Điều 13). Tuân thủ một cách chính xác cùng một qui trình đối với mỗi phép phân tích mà không có bất cứ một biến động nào.

Nếu không thể hoàn thành các phép phân tích trong vòng một ngày và phải dừng ban đêm, thì bảo quản dịch chiết mẫu ở dạng dung dịch trong dung môi khan đựng trong bình có nắp đậy kín, đặt trong tủ lạnh ở nhiệt độ từ 0 °C đến 5 °C. Không được dừng quá trình chiết, sắc ký cột v.v...

Cần phải liên tục xem xét áp dụng các kỹ thuật cập nhật hơn hay các kỹ thuật mới cho cùng một kết quả hoặc thậm chí cho kết quả chính xác hơn.

9.2 Chiết

Cân một lượng mẫu thử qui định, tốt nhất là tính bằng gam (± 1 % phần khối lượng). Để các mẫu đông lạnh được rã đông trước khi ngâm vì trong một số trường hợp mẫu đông lạnh có thể gây khó khăn cho quá trình chiết. Thời gian ngâm mẫu ít nhất là 2 min.

9.3 Làm sạch

Tiến hành quá trình tách trong phễu chiết mỗi lần ít nhất là 2 min, lắc mạnh phễu và thỉnh thoảng phải cân bằng áp suất bằng cách mở van khoá phễu chiết đã đảo ngược. Nếu lắc mạnh tạo ra thể nhũ tương bền thì tốt nhất là nên lắc nhẹ trong khoảng thời gian dài hơn. Có thể phá vỡ thể nhũ tương bằng cách thêm từ 1 ml đến 2 ml dung dịch natri clorua hoặc natri sulfat bão hoà, hoặc bằng cách làm ấm dưới vòi nước nóng, hay cho ly tâm (xem Điều 6). Khi các lớp đã tách, lấy lớp bị nhũ hoá để chiết lại hoặc loại bỏ. Tốc độ rửa giải của các cột sắc ký thường được quy định cụ thể nhưng nhìn chung phải nằm trong khoảng 1 ml/min đến 5 ml/min

Ở giai đoạn này nên bổ sung một lượng đã biết pentaclobenzen để bay hơi (hoặc 1,7- dibromoheptan) và chất chuẩn nội bay hơi ít hơn (ví dụ: mirex: 1,2,3,4- tetracloronaphtalen hoặc izodrin). Sử dụng petaclobenzen làm chất chỉ thị về sự thất thoát thuốc bảo vệ thực vật trong giai đoạn bay hơi bằng cách so sánh chiều cao (diện tích) pic của nó với chiều cao (diện tích) pic thu được khi sử dụng các chất chuẩn nội bay hơi ít hơn. Có thể sử dụng các chất chuẩn nội cho các mục đích nhận biết (thời gian lưu tương đối) và định lượng.

Không để bay hơi các dung môi hữu cơ đến khô hoàn toàn, trừ khi được quy định.

10 Phép thử sơ bộ

Bơm vào máy sắc ký khí (xem 6.2) một thể tích thích hợp từ 1,0 μ l đến 10 μ l, tùy thuộc vào hệ thống các dịch chiết đã làm sạch thu được theo phương pháp phân tích được sử dụng. Sắc đồ thu được có thể hiển thị được cả bản chất và cả nồng độ gần đúng của các hợp chất có mặt trong dịch chiết.

11 Thử định lượng

Nếu phép thử sơ bộ cho thấy dư lượng đạt tới hoặc vượt quá mức cho phép, thì kiểm tra lại kết quả thu được bằng cách sử dụng thêm ít nhất một cột sắc ký khi lòng có độ phân cực khác. Nếu kết quả thu được của cột này giống như lần trước, thì kiểm tra ít nhất là hai dịch chiết mới của mẫu.

TCVN 7082-1:2010

Đối với phép thử định lượng, chuẩn bị hai dung dịch chuẩn (xem 5.2.6) của các hợp chất clo hữu cơ đã nhận biết (xem Điều 10) trong dung môi được sử dụng cho dịch chiết cuối cùng, thường là dầu nhẹ hoặc *n*-hexan. Nồng độ của chúng phải bao trùm dải nồng độ dự kiến có trong dịch chiết cuối cùng (xem Điều 10). Sau đó bơm hai dung dịch chuẩn và dịch chiết cuối cùng với thể tích như nhau vào máy sắc ký khí (xem 6.2). Tiến hành bơm các phần dịch chiết mẫu thử đã làm sạch cả trước và sau khi bơm hai dung dịch chuẩn. Đo chiều cao hoặc diện tích pic.

Các kết quả thu được từ hai lần bơm bất kỳ của cùng một dung dịch chuẩn phải trong khoảng 5 %. Việc sử dụng chất chuẩn nội cũng có thể có ích cho phép xác định (xem 9.3).

12 Phép thử khẳng định

Sử dụng các quy trình thử khẳng định sự nhận biết các hợp chất clo hữu cơ phát hiện được, đặc biệt trong những trường hợp hàm lượng của chúng vượt quá giới hạn dư lượng tối đa (MRL). Phương pháp nêu trong TCVN 7082-2 (ISO 3890-2) cho phép nhận biết dư lượng thông qua thời gian lưu của các hợp chất trên các cột sắc ký khí lỏng (GLC). Sử dụng ít nhất hai cột sắc ký có độ phân cực khác nhau. Ngoài ra, các quy trình như sắc ký mao quản, thủy tinh, sắc ký lớp mỏng, phổ khối lượng, *p*-value (hệ số phân tách), sắc ký khí lỏng các sản phẩm oxi hóa và chuyển hoá khác và các kỹ thuật tương tự có giá trị khác. Xem thêm TCVN 7082-2 (ISO 3890-2).

13 Đánh giá kết quả

13.1 Tính kết quả

Tính nồng độ của các hợp chất clo hữu cơ trong mẫu thử từ tỷ lệ giữa các phản ứng trên sắc đồ của mẫu và chất chuẩn hoặc của dãy chất chuẩn. Biểu thị nồng độ này theo mẫu thử chuẩn hoặc chất béo chuẩn (xem 13.2.1) tùy theo quy trình, sản phẩm và lượng mẫu thử. Độ thu hồi ít nhất là 80 % hoặc nếu không kết quả sẽ phải hủy bỏ.

13.2 Trình bày và biểu thị kết quả

13.2.1 Thông thường, hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật clo hữu cơ trong các sản phẩm sữa được biểu thị theo chất béo chuẩn. Tuy nhiên, trong trường hợp các sản phẩm sữa có hàm lượng chất béo thấp, thì nên biểu thị theo mẫu thử chuẩn sẽ tốt hơn vì hàm lượng chất béo trong các sản phẩm sữa ít chất béo dao động lớn, phụ thuộc vào phương pháp chiết chất béo được sử dụng (xem phụ lục A).

13.2.2 Nên xác định hàm lượng chất béo bằng phương pháp thích hợp (xem tài liệu tham khảo) và ghi lại kết quả cùng với hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật clo hữu cơ. Tiếp theo, nêu rõ hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật clo hữu cơ đã được biểu thị theo cách nào, ví dụ miligam trên kilogam tính theo chất béo hoặc tính theo mẫu thử.

CHÚ THÍCH: Điểm ngưỡng 2 % phần khối lượng chất béo là giá trị thực tiễn có thể thoả thuận được.

13.2.3 Khi giá trị dư lượng không đạt được hay vượt quá mức cho phép, thì phải ghi lại giá trị thu được từ một phép xác định đơn lẻ.

13.2.4 Nếu có một hoặc nhiều giá trị dư lượng đạt được hay vượt quá mức cho phép, thì cần tiến hành như sau:

- a) Nêu rõ phần khối lượng trung bình và dải nồng độ của từng hợp chất clo hữu cơ. Không hiệu chỉnh phần khối lượng trung bình về phần trăm độ thu hồi các hợp chất clo hữu cơ.
- b) Nêu rõ phần trăm thu hồi phần khối lượng trung bình và giới hạn xác định của từng hợp chất clo hữu cơ tương ứng.
- c) Nêu các chi tiết về độ lặp lại thường thu được về mức độ khác nhau giữa các kết quả đo được trong phòng thử nghiệm từ phép phân tích các mẫu bổ sung chuẩn của cùng sản phẩm hoặc các mẫu có cùng các dư lượng.
- d) Nêu các chi tiết về độ tái lập thường thu được ở nồng độ trung bình đo được trong mẫu được ngoại suy từ các dữ liệu đã cho trong 13.2.2.

14 Độ chụm

14.1 Đánh giá độ chụm

Đánh giá độ chụm của phương pháp phân tích theo các yêu cầu của TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2). Theo kinh nghiệm có một vài tiêu chí chung, được nêu trong 14.2 và 14.3 được dùng để hướng dẫn cho người phân tích.

14.2 Độ lặp lại

Mỗi phòng thử nghiệm nên định kỳ xác định độ lặp lại bằng cách phân tích các mẫu đã được bổ sung các hợp chất clo hữu cơ thích hợp, hoặc, tốt nhất là sử dụng các mẫu chứa các dư lượng tương tự, ở các nồng độ gần với các mức cho phép tối đa. Các mẫu này nên được lấy từ cùng sản phẩm và nên dùng để làm mẫu thông thường và không có bất cứ dấu hiệu nào về bản chất đặc biệt, nếu có thể.

Chênh lệch giữa giá trị lớn nhất và giá trị nhỏ nhất của ba kết quả thử phải nhỏ hơn các giá trị đưa ra trong Bảng 2. Xác định các giá trị trung gian bằng cách nội suy từ đồ thị logarit-logarit.

Bảng 2 – Độ lặp lại

Mức dư lượng mg/kg	Chênh lệch mg/kg
0,01	0,005
0,1	0,025
1	0,125
CHÚ THÍCH: Trong ví dụ này mức 0,01 mg/kg là gần với giới hạn xác định	

14.3 Độ tái lập

Sử dụng Bảng 3, các số liệu được dựa trên thực nghiệm. Xác định các giá trị trung gian bằng cách nội suy từ đồ thị logarit-logarit.

Bảng 3 – Độ tái lập

Mức dư lượng mg/kg	Chênh lệch mg/kg
0,01	0,01
0,1	0,05
1	0,25
CHÚ THÍCH: Trong ví dụ này mức 0,01 mg/kg là gần với giới hạn xác định	

14.4 Giới hạn xác định

Về lý thuyết, giới hạn xác định của sản phẩm có liên quan được xác định là phần khối lượng các hợp chất clo hữu cơ tính theo miligam trên kilogam, tương ứng với độ cao h của pic thấp nhất có thể đo được, trên sắc đồ của dịch chiết sản phẩm, được xác định theo:

$$h = h_{B_1} + 2W_{B_1}$$

Trong đó:

h_{B_1} là chiều cao pic của thử mẫu trắng phía trên đường nền chuẩn tại thời gian lưu tương ứng;

W_{B_1} là biên độ trung bình của các tín hiệu nền của thử mẫu trắng tại thời gian lưu tương ứng (W_{B_1} có thể được xác định bằng đồ thị theo độ rộng tín hiệu nền trung bình của mẫu trắng).

Giới hạn của phép xác định phụ thuộc vào độ tinh sạch, bản chất của cơ chất và điều kiện sắc ký khí lỏng (cụ thể là kiểu loại cột và nhiệt độ cột, khí mang và độ nhạy của detector). Vì những điều kiện này không thể quy định một cách chính xác, nên giới hạn xác định phải được thiết lập cho từng quy trình và trong mỗi phòng thử nghiệm. Về nguyên tắc chung, giới hạn xác định của dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nên nhỏ hơn 10 % giới hạn dư lượng tối đa của nó. Tuy nhiên, nếu giới hạn dư lượng tối đa là 0,05 mg/kg hoặc nhỏ hơn, thì giới hạn xác định bằng 20 % giá trị này là phù hợp, trừ trường hợp giới hạn dư lượng tối đa gần bằng hoặc bằng mức xác định.

15 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã dùng, cũng như viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- e) việc hiệu chỉnh đã thực hiện, khi lớn hơn 2,5 mg thu được trong phép thử trắng đối với phương pháp;
- f) kết quả thu được, hoặc nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Qui định)

Chiết chất béo và các hợp chất clo hữu cơ và xác định hàm lượng chất béo

A.1 Yêu cầu chung

Các hợp chất clo hữu cơ được liên kết với pha chất béo và thường được biểu thị bằng miligam trên kilgam chất béo, đối với sản phẩm chứa hàm lượng chất béo cao (lớn hơn 2 %). Trong những trường hợp này, không cần phải xác định hàm lượng chất béo của mẫu nhưng cần xác định dư lượng clo hữu cơ trong một khối lượng đã biết của chất béo chiết được. Nếu hàm lượng chất béo của mẫu thấp (dưới 2 % phần khối lượng), thì ngoài việc ghi lại hàm lượng clo hữu cơ theo mẫu chuẩn, cần xác định phần trăm chất béo có trong mẫu.

A.2 Xác định hàm lượng chất béo

Tiến hành xác định hàm lượng chất béo của các mẫu có hàm lượng chất béo thấp (nhỏ hơn 2 % phần khối lượng) theo tiêu chuẩn thích hợp với sản phẩm tương ứng (xem tài liệu tham khảo) hoặc theo phương pháp đã biết cho các kết quả tương đương.

Phương pháp chiết Soxhlet không phù hợp để xác định chất béo trong sữa bột. Có thể dùng phương pháp phân tích sử dụng thiết bị hấp thụ hồng ngoại đang được ứng dụng rộng rãi đối với sữa và các sản phẩm sữa và có thể được sử dụng để xác định chất béo trong mẫu có hàm lượng chất béo thấp.

A.3 Chiết chất béo và các hợp chất clo hữu cơ

Các phương pháp chiết bao gồm:

- a) Chiết Soxhlet, áp dụng cho các sản phẩm sữa không ở dạng lỏng;
- b) Chiết bằng cột, áp dụng cho tất cả các sản phẩm sữa;
- c) Phương pháp chiết theo AOAC, áp dụng cho sữa và các sản phẩm dạng lỏng.

CHÚ Ý – Không làm bay hơi các dung môi hữu cơ đến khô hẳn, vì sẽ làm thất thoát hợp chất clo hữu cơ.

A.4 Thuốc thử

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

A.4.1 Celit 545³⁾

Trước khi sử dụng, đốt nóng đến 600 °C trong 4 h. Bảo quản trong bình có nắp kín khí.

A.4.2 Natri sulfat, khan (Na₂SO₄).

Trước khi sử dụng, đốt nóng đến 600 °C trong 6 h và sau đó làm nguội trong bình hút ẩm.

A.4.3 Cát biển, đã được rửa bằng axit [(ví dụ Merk No.7712)³⁾.

Trước khi sử dụng, đốt nóng đến 600 °C trong 5 h và sau đó làm nguội trong bình hút ẩm.

A.4.4 Dầu nhẹ, nhiệt độ sôi trong khoảng từ 40 °C đến 60 °C.

Trước khi sử dụng, cho hồi lưu ngược trên các hạt natri hydroxit và chumg cát.

A.4.5 Metanol, (CH₃OH) hoặc etanol (CH₃CH₂OH)**A.4.6 Dietyl ete (C₂H₅OC₂H₅), không chứa peroxit.**

Chumg cát lại trước khi sử dụng.

A.4.7 n-Hexan [CH₃(CH₂)₄CH₃]

Chumg cát lại trên các hạt natri hydroxit trước khi sử dụng.

A.4.8 Axeton (CH₃COCH₃)

Chumg cát lại trên các hạt thủy tinh trước khi sử dụng.

A.4.9 Natri oxalat (Na₂C₂O₄) hoặc kali oxalat (K₂C₂O₄).**A.5 Thiết bị, dụng cụ**

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

A.5.1 Tủ sấy, có khả năng duy trì nhiệt độ trong khoảng 102 °C ± 2 °C đến 250 °C ± 25 °C.

A.5.2 Máy ly tâm, loại chống nổ, được trang bị ống thủy tinh dung tích 200 ml đến 300 ml, và có khả năng quay với tần số 2000 r/min đến 4000 r/min.

A.5.3 Thiết bị chiết Soxhlet, bao gồm:

a) Bình cầu đáy tròn, dung tích 500 ml;

b) Bình chiết, dung tích khoảng 200 ml;

³⁾ Đây là ví dụ về các sản phẩm phù hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng phần tiêu chuẩn này, còn ISO không ấn định phải sử dụng sản phẩm này

TCVN 7082-1:2010

c) Bộ sinh hàn ngược;

d) Nguồn nhiệt (ví dụ đèn mǎng sǒng đót nóng).

A.5.4 Bể cát, dầu hoặc hơi nước, công suất 400 W.

A.5.5 Xylanh, chứa khí trơ khô, gắn với loại xylanh có đường PTFE.

A.5.6 Pipet.

A.5.7 Cân, có độ chính xác đến 0,001 g trong dải đo từ 0,01 g đến 1000 g.

A.5.8 Bộ cô quay, có bình bay hơi dung tích 500 ml.

A.5.9 Thiết bị làm nhỏ thực phẩm có nguồn gốc động vật (ví dụ máy trộn, máy khuấy, hoặc máy xay hình cầu).

A.5.10 Cột chiết, bao gồm ống thủy tinh có đường kính trong 12 mm và chiều dài tổng cộng là 300 mm, có cấu trúc thoát mao quản và chiều dài phần đỉnh là 100 mm và đường kính trong 50 mm \pm 1 mm.

A.5.11 Mặt kính đồng hồ, đường kính 100 mm.

A.5.12 Cối giã, có chày.

A.5.13 Giấy lọc gấp nếp, đường kính khoảng 300 mm, đã được rửa bằng dung môi.

A.5.14 Bầu chiết (tuỳ chọn), được chiết sơ bộ bằng dung môi tinh khiết nhất và bảo quản trong hexan đựng trong bình thủy tinh.

CHÚ THÍCH: Sử dụng bầu chiết thường dẫn đến sự có mặt các tạp chất trong dịch chiết mẫu (có các pic nhiễu trong sắc đồ).

A.5.15 Bông thủy tinh và bông vải, tinh khiết về thành phần hoá học.

Trước khi sử dụng, chiết bằng hỗn hợp dung môi hexan/axeton và bảo quản trong bình chứa hexan.

A.5.16 Phễu thủy tinh, loại thân dài và ngắn.

A.5.17 Phễu chiết.

A.5.18 Bi thủy tinh và đĩa thủy tinh, đã được rửa bằng dung môi.

A.5.19 Cốc có mỏ, các cỡ khác nhau.

A.5.20 Bình định mức.

A.5.21 Dao và kẹp.

A.5.22 Bơm nước.**A.6 Qui trình chiết****A.6.1 Chiết Soxhlet**

Làm nóng bình đáy tròn dung tích 500 ml (A.5.3) chứa năm viên thủy tinh (A.5.18) trong tủ sấy (A.5.1) đến 102 °C trong 30 min. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và cân. Lặp lại quá trình sấy cho đến khi thu được khối lượng bình không đổi, nghĩa là cho đến khi chênh lệch giữa kết quả của hai lần cân liên tiếp không quá 0,01 g.

Cân trực tiếp mẫu trên một mặt kính đồng hồ (A.5.11). Đối với phomat thì cắt mẫu thành từng miếng nhỏ. Chuyển mẫu vào cối giã (A.5.12) và nghiền kỹ trong hỗn hợp cát (A.4.3) và natri sulfat (A.4.2) (1 + 1 phần theo khối lượng) để thu được dạng bột khô. Cũng có thể sử dụng celit 545 (A.4.1). Lượng natri sulfat (A.4.2) và cát (A.4.3) yêu cầu phụ thuộc vào số lượng và hàm lượng nước của thực phẩm. Chuyển lượng bột thu được sang giấy lọc (A.5.13).

Lau khô cối giã, chày và mặt kính đồng hồ bằng một miếng bông vải (A.5.15) đã được tẩm dầu nhẹ (A.4.4). Đặt miếng bông vải vào giấy lọc đã chứa bột (A.5.13) và chuyển toàn bộ chúng (đã được gói lại) vào trong bình chứa của thiết bị chiết Soxhlet.

Sau đó cho 250 ml dầu nhẹ (A.4.4) và lượng dịch chiết mẫu sau 6 h dưới dòng đối lưu vào bình (A.5.3) đã cân trước. Loại bỏ dung môi bằng bộ cô quay (A.5.8) ở nhiệt độ khoảng 50 °C dưới áp suất giảm sử dụng bơm nước (A.5.22) và cân bình. Lặp lại quy trình như trên cho đến khi thu được khối lượng bình không đổi, nghĩa là cho đến khi chênh lệch giữa kết quả của hai lần cân liên tiếp không quá 0,01 g.

A.6.2 Chiết bằng cột

Trộn kỹ một lượng mẫu thích hợp với một lượng cát (A.4.3) vừa đủ và natri sulfat (A.4.2) (1 + 1 phần khối lượng) trong cối giã (A.5.12) hoặc trong máy xay hình cầu (A.5.9) để thu được sản phẩm dạng khô. Đối với trường hợp chiết sữa bột, hoàn nguyên hoàn toàn chúng bằng nước cất (9 + 1 phần khối lượng) trước khi trộn. Chuyển hỗn hợp này vào cột chiết (A.5.10) trước đó đã được nhồi một lớp natri sulfat dày 2 cm và được đậy một nút nhỏ bằng bông thủy tinh (A.15.5). Rửa giải cột khô bằng hỗn hợp *n*-hexan (A.4.7) và axeton (A.4.8) (2 + 1 phần thể tích). Lượng dung môi phụ thuộc vào khối lượng và bản chất của mẫu. Thu lấy dịch rửa giải để qua đêm và cô đặc chúng trong bộ cô quay (A.5.8) như trong A.6.1.

A.6.3 Phương pháp chiết theo AOAC

A.6.3.1 Lắc 100 ml sữa với 100 ml metanol (A.4.5) và 1 g natri oxalat (A.4.9) khoảng 1 min trong phễu chiết dung tích 500 ml (A.5.17). Thêm 50 ml dietyl ete (A.4.6) và lắc thêm khoảng 1 min. Lặp lại các thao tác trên với 50 ml dầu nhẹ (A.4.4).

TCVN 7082-1:2010

A.6.3.2 Cách khác, lượng mẫu và thuốc thử đã nói ở trên có thể giảm đi một nửa, thêm 50 ml hỗn hợp dietyl ete(A.4.6) và dầu nhẹ (A.4.4) (1 + 1 phần thể tích). Trong trường hợp này, hỗn hợp cần được khuấy trộn mạnh trong 2 min. Bước tiếp theo tiến hành theo cách tương tự.

A.6.3.3 Sau khi tách pha bằng ly tâm với tần số quay 1500 r/min trong 5 min, chuyển pha hữu cơ sang một phễu chiết khác (A.5.17) và chiết pha lỏng hai lần bằng các phần 50 ml hỗn hợp của dietyl ete (A.4.6) và dầu nhẹ (A.4.4) (1 + 1 phần thể tích). Rửa các pha dung môi hỗn hợp bằng 400 ml nước và loại bỏ lớp dịch lỏng. Làm khô dung dịch dung môi qua natri sulfat (A.4.2) và làm bay hơi đến khối lượng không đổi trong bình đã biết khối lượng bằng bộ cô quay (A.5.8).

A.6.4 Phương pháp chiết đối với bơ

Gia nhiệt mẫu đến khoảng 50 °C và gạn qua bộ lọc ẩm và khô. Hoà tan butterfat trong dung môi thích hợp.

Phụ lục B

(Tham khảo)

Phép phân tích khi có mặt polyclobiphenyl (PCB)

B.1 Yêu cầu chung

Dư lượng polyclobiphenyl (một hỗn hợp các đồng phân thu được bằng clo hoá biphenyl) thường được tìm thấy trong thực phẩm, chủ yếu là thực phẩm có nguồn gốc từ động vật, cũng như trong một số vật liệu bao gói. Cho đến giai đoạn chiết và tách theo phương pháp đã đề cập, chúng thể hiện nhiều đặc điểm rất giống với các hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ. Trên sắc ký khí đồ, các pic của các hợp chất biphenyl polyclo hoá (PCB) có thể sẽ chồng lên trên các pic của một số hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ (đặc biệt là pic sắc ký của nhóm DDT) và điều này sẽ làm cho việc định lượng các loại thuốc bảo vệ thực vật đó khó hơn. Ví dụ, đối với các biphenyl polyclo hoá cao, thì hàm lượng PCB 1 mg/kg có thể giống với mức dư lượng 0,1 mg/kg thuốc bảo vệ thực vật *p,p'*- DDT.

B.2 Tách PCB ra khỏi hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ bằng sắc ký cột hoặc tạo dẫn xuất

Có vài phương pháp đã được xây dựng để tách PCB ra khỏi hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ, tách trên silicagel, Florisil, nhôm oxit/than củi hoặc chỉ trên than củi. Các hợp chất PCB bị tách khỏi các hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ bằng cách sử dụng các dung môi có độ phân cực khác nhau. Đầu tiên các hợp chất PCB được rửa giải, sau đó là quá trình rửa giải thuốc bảo vệ thực vật clo hữu cơ bằng một dung môi phân cực hơn. Việc tách PCB ra khỏi *p,p'*- DDE đôi khi gặp khó khăn. Các vết dung môi phân cực hoặc sự thay đổi hoạt tính của silicagel có thể dẫn đến sự tách đồng thời một phần *p,p'*-DDT cùng với các hợp chất PCB.

Hợp chất PCB và aldrin thường được rửa giải đầu tiên ra khỏi cột silicagel bằng dầu nhẹ, tiếp đến các hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ được rửa giải bằng hỗn hợp các dung môi axetonitril/hexan/diclorometan (1 + 90 + 80 phần thể tích).

Trong các trường hợp khi có mặt của *p,p'*-DDT gây khó khăn cho việc định lượng, thì có thể tách DDT bằng cách tạo các dẫn xuất rồi tách các sản phẩm chuyển hoá của nó. Crom trioxit (Cr_2O_3) trong axit axetic bằng oxi hoá *p,p'*- DDT thành *p,p'*- diclorobenzophenon. Các hợp chất PCB còn lại về cơ bản không bị ảnh hưởng. Xử lý dịch chiết bằng dung dịch rượu kiềm tính trước khi thực hiện sự oxi hoá bằng axit anhydrit cromic có thể khẳng định *p,p'*-DDT khi có mặt các hợp chất PCB. Trong quy trình này, đầu tiên *p,p'*-DDT phản ứng với kiềm tạo thành *p,p'*-DDE, sau đó tiếp tục oxi hoá thành *p,p'*-diclorobenzophenon.

Sử dụng phương pháp sắc ký khí cột mao quản có thể không cần đến việc tách bằng cột sắc ký và có tác dụng tích cực đến sự định lượng hợp chất bảo vệ thực vật clo hữu cơ khi có mặt các hợp chất PCB.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*
- [2] TCVN 6508 (ISO 1211), *Sữa – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (phương pháp chuẩn).*
- [3] TCVN 7084 (ISO 1736), *Sữa bột và sản phẩm sữa bột – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn).*
- [4] TCVN 8109 (ISO 1737), *Sữa cô đặc và sữa đặc có đường – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn).*
- [5] ISO 1854, *Whey cheese – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method).*
- [6] ISO 2450, *Cream – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method).*
- [7] TCVN 6833 (ISO 7208), *Sữa gầy, whey và buttermilk. Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (phương pháp chuẩn).*
- [8] TCVN 8101 (ISO 8260), *Sữa và sản phẩm sữa – Xác định thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và polyclobiphenyl – Phương pháp sắc ký khí-lồng mao quản có detector bắt giữ electron.*
- [9] TCVN 6668-1 (ISO 8262-1), *Sản phẩm sữa và thực phẩm từ sữa – Xác định hàm lượng chất béo bằng phương pháp khối lượng Weibull-berntrop (phương pháp chuẩn) – Phần 1: Thực phẩm dành cho trẻ nhỏ*
- [10] TCVN 6668-2 (ISO 8262-2), *Sản phẩm sữa và thực phẩm từ sữa – Xác định hàm lượng chất béo bằng phương pháp khối lượng Weibull-berntrop (phương pháp chuẩn) – Phần 2: Kem lạnh và kem lạnh hỗn hợp.*
- [11] TCVN 6668-3 (ISO 8262-3), *Sản phẩm sữa và thực phẩm từ sữa. Xác định hàm lượng chất béo bằng phương pháp khối lượng Weibull-berntrop (phương pháp chuẩn). Phần 3: Trường hợp đặc biệt.*
- [12] TCVN 6687 (ISO 8381), *Thực phẩm từ sữa dùng cho trẻ sơ sinh – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn).*
- [13] Gunther, FA, Blinn, R.C., Kolbezen, M.J., Barkley, J.H., Harris, W.D., Simon, H.S. Microestimation of 2-(p-tert-butylphenoxy)isopropyl-2-chloroethyl sulfite residues. Anal. Chem., 1951, 23, pp. 1835-1842
- [14] 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