

## Lời nói đầu

TCVN 8170-3 : 2009 hoàn toàn tương đương với EN 1528-3 : 1996;

TCVN 8170-3 : 2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 8170 (EN 1528), *Thực phẩm chứa chất béo – Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polyclobiphenyl (PCB) gồm các phần* sau đây:

- TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996), *Phần 1: Yêu cầu chung;*
- TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996), *Phần 2: Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật, PCB và xác định hàm lượng chất béo;*
- TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996), *Phần 3: Phương pháp làm sạch;*
- TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996), *Phần 4: Phương pháp xác định, phép thử khẳng định và các qui trình khác.*

## Giới thiệu

Tiêu chuẩn này bao gồm các phương pháp thử đa dư lượng như nhau: không có phương pháp riêng lẻ nào có thể được nhận biết là phương pháp tốt nhất vì trong lĩnh vực này các phương pháp này sẽ tiếp tục hoàn thiện. Các phương pháp được chọn trong tiêu chuẩn này đã được kiểm tra xác nhận và được sử dụng rộng rãi ở Châu Âu. Bất kỳ thay đổi nào trong các phương pháp được sử dụng cũng cần cho các kết quả tương đương.

Các dư lượng cần phân tích trong tiêu chuẩn này có liên quan đến phần chất béo trong mẫu thử. Ngoài các dư lượng, các dịch chiết thu được trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996) bằng các phương pháp chứa chất chuẩn kể cả mỡ và các lipid khác đều có thể gây nhiễu cho phép phân tích. Có thể phải sử dụng một số phương pháp để tinh sạch các dịch chiết thô hoặc dầu và mỡ cần phân tích.

Tiêu chuẩn này bao gồm các phương pháp làm sạch sau đây đã qua nghiên cứu liên phòng thử nghiệm và được áp dụng rộng rãi ở Châu Âu:

- Phương pháp A: Phân tách lỏng-lỏng với axetonitril và làm sạch trên cột Florisil® (AOAC) [1].
- Phương pháp B: Phân tách lỏng-lỏng với dimetylformamid và làm sạch trên cột Florisil® (Specht) [2].
- Phương pháp C: Sắc ký cột trên Florisil® đã hoạt hóa (AOAC) [3].
- Phương pháp D: Sắc ký cột trên Florisil® đã bất hoạt từng phần (Stijve) [4].
- Phương pháp E: Sắc ký cột trên nhôm oxit đã bất hoạt từng phần (Greve Grevenstuk) [5].
- Phương pháp F: Sắc ký thẩm thấu gel (GPC) (AOAC) [6].
- Phương pháp G: Sắc ký thẩm thấu gel (GPC) và sắc ký cột trên silica gel đã bất hoạt từng phần (Specht) [7].
- Phương pháp H: Sắc ký thẩm thấu gel hiệu năng cao (HPGPC) (MAFF) [8].

# Thực phẩm chứa chất béo –

## Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polycyclobiphenyl (PCB) –

### Phần 3: Các phương pháp làm sạch

*Fatty food – Determination of pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs) –*

*Part 3: Clean-up methods*

#### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các phương pháp từ A đến H để làm sạch dầu và mỡ hoặc phần chất béo đã tách tương ứng, sử dụng các kỹ thuật như phân tách lỏng-lỏng, hấp phụ hoặc sắc ký cột thẩm thấu gel. Khả năng áp dụng của các phương pháp từ A đến H được nêu chi tiết trong từng phương pháp.

**CHÚ THÍCH** Xem TCVN -4:2009 (EN 1528-4) có đưa ra các qui trình loại bỏ các lipid khi phân tích các lượng lớn chất béo.

#### 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 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996), *Thực phẩm chứa chất béo – Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polycyclobiphenyl (PCB) – Phần 1: Yêu cầu chung.*

TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996), *Thực phẩm chứa chất béo – Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polycyclobiphenyl (PCB) – Phần 2: Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật, PCB và xác định hàm lượng chất béo.*

TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996), *Thực phẩm chứa chất béo – Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polycyclobiphenyl (PCB) – Phần 4: Phương pháp xác định, phép thử khẳng định và các qui trình khác.*

### 3 Nguyên tắc

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

### 4 Yêu cầu chung

Có thể thực hiện việc phân tách lỏng-lỏng trong phễu chiết bằng cách lắc 2 min, thỉnh thoảng mở nút để giải tỏa áp với phễu lật ngược. Nếu lắc mạnh sẽ tạo thành nhũ tương bền thì tốt nhất nên lắc nhẹ trong một khoảng thời gian dài. Có thể phá vỡ nhũ tương bằng cách thêm 1 ml đến 2 ml dung dịch natri clorua bão hòa hoặc natri sulfat, làm ấm dưới vòi nước nóng hoặc ly tâm.

Khi bị tách lớp, thì chiết lại lớp phân cách đã nhũ hóa hoặc loại bỏ.

Hoạt tính của Florisil® được dùng cho sắc ký cột phải được kiểm tra định kỳ và phải được điều chỉnh theo qui định trong các phương pháp có liên quan, nếu cần.

**CHÚ THÍCH 1** Florisil®<sup>1</sup> được sử dụng rộng rãi như chất hấp phụ trong phân tích dư lượng vì chúng có khả năng liên kết với lipid cao. Tuy nhiên, hoạt tính của chúng có thể thay đổi đáng kể tùy thuộc vào mẻ sản xuất và các điều kiện vận chuyển và bảo quản.

Tốc độ rửa giải của cột sắc ký thường được qui định nhưng cần phải nằm trong khoảng từ 1 ml/min đến 5 ml/min.

Trong phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ, tại giai đoạn này của qui trình thì khuyến cáo bổ sung một lượng biết trước của pentaclobenzen bay hơi (hoặc 1,7-dibromheptan) và hợp chất chỉ thị ít bay hơi (ví dụ: 1, 2, 3, 4-tetraclonaphtalen hoặc isodrin<sup>2</sup>). Sử dụng pentaclobenzen làm chất chỉ thị về khả năng thất thoát thuốc bảo vệ thực vật trong giai đoạn cho bay hơi bằng cách so sánh các diện tích (chiều cao) pic của chúng với các diện tích (chiều cao) pic của hợp chất chỉ thị ít bay hơi. Hợp chất chỉ thị bổ sung có thể được dùng làm chất chuẩn nội cho các mục đích nhận biết (thời gian lưu tương đối) và định lượng. Tuy nhiên, với detector bắt giữ điện tử (ECD), các chất cộng chiết có thể cho các pic (dương và âm) trùng với cùng với thời gian lưu của chất chuẩn nội. Không cho phép làm bay hơi các dung môi hữu cơ đến khô vì có thể làm thất thoát hợp chất.

**CHÚ THÍCH 2** Trong Thư mục tài liệu tham khảo có đề cập đến các phương pháp.

<sup>1</sup> Florisil® là ví dụ về một sản phẩm tổng hợp được bán sẵn. Thông tin này được đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng; còn CEN không ấn định sử dụng sản phẩm này.

<sup>2</sup> 1, 2, 3, 4, 10, 10' - Hexachloro-1,4,4',5,8,8'-hexahydro-1,4-endo-5,8-endodimethanonaphthalen.

## 5 Phương pháp A: Phân tách lỏng-lỏng bằng axetonitril và làm sạch trên cột Florisil (AOAC) [1]

### 5.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 17 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa, các chất tương tự PCB và 6 thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ (trong các trường hợp đặc biệt), như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

### 5.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu bằng một trong các qui trình trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Cô đặc dịch chiết gần như đến khô, rồi hòa tan lại trong dầu nhẹ và tách phân đoạn dư lượng trong axetonitril. Sau khi pha loãng axetonitril với một lượng nước dư, tách phân đoạn dư lượng trong dầu nhẹ. Cho chạy sắc ký pha hữu cơ cô đặc trên cột Florisil sử dụng dầu nhẹ/dietyl ete để rửa giải. Cô đặc dịch rửa giải để xác định bằng sắc ký khí.

### 5.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

#### 5.3.1 Axetonitril.

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

#### 5.3.3 Axetonitril (5.3.1) bão hòa trong dầu nhẹ (5.3.2).

#### 5.3.4 Dietyl ete, không chứa peroxit. Được chưng cất và ổn định bằng 2,0 % thể tích etanol tuyệt đối.

#### 5.3.5 Hỗn hợp rửa giải A, dầu nhẹ (5.3.2) và dietyl ete (5.3.4) với tỷ lệ 94:6 (thể tích).

#### 5.3.6 Hỗn hợp rửa giải B, dầu nhẹ (5.3.2) và dietyl ete (5.3.4) với tỷ lệ 85:15 (thể tích).

#### 5.3.7 Hỗn hợp rửa giải C, dầu nhẹ (5.3.2) và dietyl ete (5.3.4) với tỷ lệ 50:50 (thể tích).

#### 5.3.8 Natri sulfat, dạng hạt khan. Nung ở 500 °C hoặc 550 °C ít nhất 4 h, để nguội rồi bảo quản trong chai có nắp đậy kín.

#### 5.3.9 Florisil®, 150 µm đến 250 µm (60 mesh đến 100 mesh). Được hoạt hóa bằng cách nung ở 650 °C trong 4 h rồi chuyển ngay sang vật chứa có nắp đậy kín và bảo quản nơi tối. Trước khi sử dụng, nung ở 130 °C ít nhất 5 h và để nguội trong bình hút ẩm.

Kiểm tra từng mẻ Florisil® như sau:

Cho 1 ml dung dịch *n*-hexan chuẩn có chứa 0,1 mg/l từng loại lindan, heptaclo, aldrin, heptaclo epoxit và dieldrin và 0,3 mg/l endrin đi qua cột hấp phụ. Rửa giải và cô đặc như trong 5.5.3. Xác định độ thu hồi bằng sắc ký khí

Florisil® được coi là đáp ứng được các yêu cầu nếu lindan, heptaclo, aldrin và heptaclo epoxit được rửa giải hết trong hỗn hợp rửa giải A (5.3.5) và dieldrin và endrin được rửa giải hết trong hỗn hợp rửa giải B (5.3.6).

**5.3.10 Dung dịch natri clorua**, bão hòa. Nung natri clorua ở 500 °C ít nhất 4 h trước khi chuẩn bị dung dịch.

## 5.4 Thiết bị, dụng cụ

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

**5.4.1 Phễu chiết**, dung tích 125 ml và 1000 ml, có nút thủy tinh mài và có vòi khóa PTFE.

**5.4.2 Ống sắc ký**, có đường kính ngoài 25 mm, dài 50 mm, có vòi khóa PTFE và đĩa thủy tinh xóp hoặc nút bông thủy tinh.

**5.4.3 Ống sắc ký**, có đường kính trong 22 mm, dài 300 mm, có vòi khóa PTFE và đĩa thủy tinh xóp hoặc nút bông thủy tinh.

**5.4.4 Dụng cụ bay hơi Kuderna-Danish**, dung tích 500 ml, được gắn với ống thu nhận chia độ, hoặc loại tương đương.

**5.4.5 Cột micro-Snyder 2 bầu**, hoặc cột micro-Vigreux.

## 5.5 Cách tiến hành

### 5.5.1 Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật và PCB

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996).

### 5.5.2 Chiết phân đoạn với dầu nhẹ/axetonitril

Cân 3 g chất béo cho vào phễu chiết 125 ml (5.4.1) và thêm dầu nhẹ (5.3.2) sao cho tổng thể tích chất béo và dầu nhẹ là 15 ml. Thêm 30 ml axetonitril đã bão hòa dầu nhẹ (5.3.3), lắc mạnh trong 1 min, để cho tách pha rồi tháo lớp axetonitril sang phễu chiết 1000 ml có chứa 650 ml nước, 40 ml dung dịch natri clorua bão hòa (5.3.10) và 100 ml dầu nhẹ (5.3.2). Chiết lớp dầu nhẹ trong phễu 125 ml ba lần mỗi lần 30 ml axetonitril đã bão hòa dầu nhẹ (5.3.3) và mỗi lần lắc 1 min.

Gộp tất cả các dịch chiết vào phễu 1000 ml. Giữ phễu chiết ở tư thế nằm ngang và trộn từ 30 s đến 45 s. Để tách pha rồi tháo lớp nước sang phễu chiết 1000 ml thứ hai. Thêm 100 ml dầu nhẹ vào phễu chiết thứ hai, lắc kỹ 15 s và để cho tách pha. Gạn phần nước, gộp lớp dầu nhẹ với phần trên trong phễu

chiết ban đầu và rửa hai lần, mỗi lần dùng 100 ml nước. Loại bỏ lớp nước rửa và đổ lớp dầu nhẹ qua ống sắc ký (5.4.2) có chứa natri sulfat khan (5.3.8) cho vào bộ cô Kurdena-Danish (5.4.4). Tráng phễu và cột ba lần mỗi lần khoảng 10 ml dầu nhẹ. Cho bay hơi hỗn hợp của các dịch chiết và nước rửa trong bộ cô Kurdena-Danish (5.4.4) cho đến khi còn khoảng 10 ml để chuyển sang cột Florisil.

### 5.5.3 Sắc ký lột Florisil®

Chuẩn bị cột sắc ký (5.4.3) chứa một lớp 10 cm Florisil® đã hoạt hóa (5.3.9), phủ một lớp 1 cm natri sulfat khan lên đỉnh cột. Làm ướt trước cột bằng 40 ml đến 50 ml dầu nhẹ. Đặt bộ cô Kudena-Danish (5.4.4) có gắn ống thu nhận chia độ dưới cột để hứng dịch rửa giải. Chuyển dung dịch thu được từ 5.5.2 sang cột, với tốc độ không quá 5 ml/min. Tráng vật chứa hai lần, mỗi lần dùng 5 ml dầu nhẹ, đổ nước tráng sang cột, tráng tiếp thành ống bằng các lượng nhỏ của dầu nhẹ và rửa giải với tốc độ 5 ml/min bằng 200 ml hỗn hợp dịch rửa giải A (5.3.5). Thay bình hứng và rửa giải bằng 200 ml hỗn hợp rửa giải B (5.3.6) với tốc độ 5 ml/min. Thay bình hứng và rửa giải bằng 200 ml hỗn hợp rửa giải C (5.3.7) với tốc độ 5 ml/min.

Cô đặc từng dịch rửa giải riêng rẽ trong bộ cô Kurdena-Danish (5.4.4) đến thể tích thích hợp. Nếu cần đến thể tích nhỏ hơn 5 ml, thì sử dụng cột micro-Snyder 2 bầu, hoặc cột micro-Vigreux (5.4.5). Cần làm sạch tiếp lần thứ hai trên cột Florisil® mới chuẩn bị.

Các dịch rửa giải lần đầu có chứa các hợp chất nhóm clo hữu cơ được liệt kê trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996), trừ dieldrin và endrin được chứa trong dịch rửa giải thứ hai. Các hợp chất nhóm phospho hữu cơ có mặt trong cả ba dịch rửa giải.

## 5.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996) .

## 5.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 5.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 6 Phương pháp B: Tách phân đoạn lỏng-lỏng bằng dimetylformamid và làm sạch trên cột Florisil® (Specht) [2]

### 6.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 18 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa, các chất tương tự PCB và 7 thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ như

trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Phương pháp này thích hợp để xác định các nồng độ dư lượng rất thấp vì các dịch chiết được tinh sạch rất kỹ. Tuy nhiên, qui trình làm sạch rất nghiêm ngặt và thời gian chiết sẽ dài hơn.

## 6.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu bằng một trong các qui trình trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Cô đặc dịch chiết gần như đến khô, rồi hòa tan lại trong dầu nhẹ và tách phân đoạn dư lượng trong dimetylformamid. Sau khi thêm dung dịch natri sulfat, tách phân đoạn tiếp dư lượng vào trong dầu nhẹ. Cho chạy sắc ký pha hữu cơ cô đặc trên cột Florisil® và rửa giải bằng hỗn hợp dầu nhẹ/dietyl ete đối với nhóm clo hữu cơ và hỗn hợp dầu nhẹ/etyl axetat đối với nhóm phospho hữu cơ. Cô đặc dịch rửa giải để xác định bằng sắc ký khí.

## 6.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

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

**6.3.2 Dầu nhẹ (6.3.1) đã bão hòa với dimetylformamid (6.3.3).**

**6.3.3 Dimetylformamid.**

**6.3.4 Dimetylformamid (6.3.3) đã bão hòa với dầu nhẹ (6.3.1).**

**6.3.5 Dietyl ete**, không chứa peroxit.

**6.3.6 Etyl axetat.**

**6.3.7 *n*-hexan.**

**6.3.8 Hỗn hợp rửa giải I**, dầu nhẹ (6.3.1) và dietyl ete (6.3.5) với tỷ lệ 94 : 6 (thể tích).

**6.3.9 Hỗn hợp rửa giải II**, dầu nhẹ (6.3.1) và etyl axetat (6.3.6) với tỷ lệ 6 : 4 (thể tích).

**6.3.10 Florisil®**, 150 µm đến 250 µm (60 mesh đến 100 mesh).

Nung ở 550 °C ít nhất 2 h, để nguội và bảo quản trong vật chứa có nắp đậy kín. Trước khi sử dụng, nung ở 130 °C ít nhất 5 h và để nguội trong bình hút ẩm và thêm 5 phần nước cất vào 95 phần chất hấp phụ (khối lượng). Lắc hỗn hợp này ít nhất 20 min rồi bảo quản trong vật chứa có nắp đậy kín trong ít nhất 10 h.



**6.3.11 Natri sulfat**, dạng hạt khan được nung ở 550 °C ít nhất 2 h.

**6.3.12 Dung dịch natri sulfat**, 2 g/100 ml.

## **6.4 Thiết bị, dụng cụ**

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

**6.4.1 Ống sắc ký**, có đường kính trong 20 mm, dài từ 40 đến 50 mm, có vòi khóa PTFE và đĩa thủy tinh xóp.

**6.4.2 Bộ cô quay**, có các bình làm bay hơi dung tích 500 ml và nồi cách thủy có thể kiểm soát được nhiệt độ từ 20 °C đến 50 °C.

**6.4.3 Phễu chiết**, dung tích 500 ml và 250 ml, có nút thủy tinh mài và có vòi khóa PTFE.

## **6.5 Cách tiến hành**

### **6.5.1 Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật và PCB**

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996).

### **6.5.2 Chiết phân đoạn với dầu nhẹ/dimetylformamid**

Hòa tan dầu hoặc mỡ hoặc dịch chiết mẫu (chứa khoảng 2 g đến 5 g chất béo) trong 25 ml dầu nhẹ đã bão hòa dimetylformamid (6.3.2) và chuyển dung dịch sang phễu chiết 250 ml (6.4.3). Tráng vật chứa mẫu bằng các lượng nhỏ của 75 ml dimetylformamid (6.3.4). Cho phần dimetylformamid còn lại vào phễu chiết và lắc mạnh trong 1 min. Tháo pha dimetylformamid và chiết lại pha dầu nhẹ bằng 10 ml dimetylformamid (6.3.4).

Chuyển các pha dimetylformamid đã gộp cho sang phễu chiết 500 ml và thêm 200 ml dung dịch natri sulfat (6.3.12). Chiết liên tiếp một lần dùng 40 ml dầu nhẹ và ba lần tiếp mỗi lần dùng 25 ml dầu nhẹ (6.3.2), mỗi lần 1 min. Rửa hỗn hợp của các pha dầu nhẹ này bằng 10 ml nước, làm khô trên natri sulfat (6.3.11), lọc qua nút sợi bông, thêm 5 ml *n*-hexan và cô đặc trong bộ cô quay cho đến khi còn khoảng 5 ml.

### **6.5.3 Sắc ký cột Florisil®**

Làm đầy dầu nhẹ đến nửa ống sắc ký chứa đĩa thủy tinh xóp (6.4.1) hoặc nút bông thủy tinh bằng cách rót từ từ từng lượng nhỏ 30 g Florisil® (6.3.10) qua phễu, hé mở nút và gõ nhẹ cột. Chỉ sử dụng các cột không chứa bọt khí. Phủ lên Florisil® một lớp natri sulfat dày khoảng 2 cm và tháo phần dầu nhẹ cho đến khi còn khoảng 2 mm phía trên đỉnh cột nhồi.

Chuyển dung dịch thu được từ 6.5.2 sang cột. Để dung dịch thấm qua cột và còn lại khoảng 1 mm đến 2 mm trên đỉnh cột. Tráng bình cầu bằng các lượng nhỏ của 200 ml hỗn hợp rửa giải I (6.3.8), cho nước rửa sang cột và để dịch thấm và còn lại khoảng 1mm đến 2 mm trên đỉnh cột. Rửa giải cột bằng phần còn lại của 200 ml hỗn hợp rửa giải I với tốc độ khoảng 5 ml/min. Thêm 5 ml *n*-hexan vào dịch rửa giải và cô đặc trong bộ cô quay cho đến khi còn khoảng 5 ml, tráng bằng *n*-hexan rồi cho vào bình định mức hoặc ống chia độ và pha loãng tiếp bằng *n*-hexan (dịch rửa giải I) đến thể tích xác định, ví dụ: 10 ml.

Nếu ngoài các hợp chất nhóm clo hữu cơ cần phải xác định các dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ thì ngừng rửa giải ngay trước khi các vết cuối cùng của hỗn hợp rửa giải I đã chuyển sang cột nhồi. Thay bình hứng và tiếp tục rửa giải bằng 300 ml hỗn hợp rửa giải II (6.3.9). Cô đặc dịch rửa giải thứ hai trong bộ cô quay đến khi còn khoảng 5 ml, tráng bằng etyl axetat rồi cho vào bình định mức hoặc ống chia độ và pha loãng bằng etyl axetat (dịch rửa giải II) đến thể tích xác định, ví dụ: 10 ml.

## 6.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

## 6.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 6.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

# 7 Phương pháp C: Sắc ký cột trên Florisil đã hoạt hóa (AOAC) [3]

## 7.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 4 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa (p,p'-TDE, p,p'-DDE, p,p'-DDT và dieldrin), các chất tương tự PCB trong các mẫu thủy sản như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 7.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu cá bằng dầu nhẹ, cô dịch chiết đến một thể tích nhỏ. Cho chạy sắc ký dung dịch trên cột Florisil® sử dụng dầu nhẹ/dietyl ete để rửa giải. Cô đặc dịch rửa giải để xác định bằng sắc ký khí.

### 7.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

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

**7.3.2 Dietyl ete**, không chứa peroxit. Được chưng cất và ổn định bằng etanol tuyệt đối 2,0 % thể tích.

**7.3.3 Hỗn hợp rửa giải A**, dầu nhẹ (7.3.1) và dietyl ete (7.3.2) với tỷ lệ 96:4 (thể tích).

**7.3.4 Hỗn hợp rửa giải B**, dầu nhẹ (7.3.1) và dietyl ete (7.3.2) với tỷ lệ 85:15 (thể tích).

**7.3.5 Natri sulfat**, dạng hạt khan. Nung ở 550 °C ít nhất 2 h.

**7.3.6 Florisil®**, 190 µm đến 250 µm (60 mesh đến 80 mesh).

Được hoạt hóa bằng cách nung ở 650 °C trong 4 h rồi chuyển ngay sang vật chứa có nắp đậy kín và bảo quản nơi tối. Trước khi sử dụng, nung ở 130 °C ít nhất 5 h và để nguội trong bình hút ẩm.

Kiểm tra từng mẻ Florisil® như sau:

Cho 1 ml dung dịch *n*-hexan chuẩn có chứa 0,1 mg/l từng loại lindan, heptaclo, aldrin, heptaclo epoxit và dieldrin và 0,3 mg/l endrin đi qua cột hấp phụ (7.5.2). Rửa giải và cô đặc như trong 7.5.2. Xác định độ thu hồi bằng sắc ký khí.

Florisil được coi là thỏa mãn nếu lindan, heptaclo, aldrin và heptaclo epoxit được rửa giải hết trong hỗn hợp rửa giải A (7.3.3) và dieldrin và endrin được rửa giải hết trong hỗn hợp rửa giải B (7.3.4).

**7.3.7 Chất trợ sôi**, ví dụ: carbonrundum

### 7.4 Thiết bị, dụng cụ

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

**7.4.1 Ống sắc ký**, có đường kính trong 10 mm, dài 30 mm, có vòi khóa PTFE và đĩa thủy tinh xóp.

**7.4.2 Bộ cô Kuderna-Danish**, dung tích 125 ml, có gắn với ống thu nhận được chia độ dung tích 10 ml, hoặc loại tương đương.

**7.4.3 Bộ trộn tốc độ cao**, được gắn với bình thủy tinh kín và động cơ chống nổ hoặc bộ đồng hóa.

**7.4.4 Máy ly tâm**, loại chống nổ, có các ống thủy tinh hoặc cốc trộn dung tích khoảng 200 ml, trong đó các ống có thể quay ở tần số quay từ 1 000 min<sup>-1</sup> đến 3 000 min<sup>-1</sup>.

#### 7.4.5 Cột Snyder.

### 7.5 Cách tiến hành

#### 7.5.1 Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật và PCB

Cân 20 g mẫu đã nghiền và trộn kỹ cho vào cốc trộn. Làm ẩm 40 g natri sulfat (7.3.5) bằng dầu nhẹ (7.3.1) và cho vào mẫu. Dùng que khuấy để trộn mẫu, để yên 20 min và trộn lại. Thêm 100 ml dầu nhẹ vào mẫu và trộn từ 1 min đến 2 min. Cho ly tâm cốc đựng mẫu từ 1 min đến 2 min ở khoảng 2000 min<sup>-1</sup> để thu được dịch chiết trong bằng dầu nhẹ. Đặt nút bông thủy tinh lên phễu, phủ một lớp 20 g natri sulfat và đặt phễu chiết vào bình định mức 250 ml. Gạn dịch chiết dầu nhẹ qua natri sulfat sang bình định mức. Khuấy để trộn mẫu, thêm 100 ml dầu nhẹ và chiết như trên. Thêm dầu nhẹ đến vạch 250 ml. Chuyển 25 ml phần nước sang bình cầu đáy phẳng 100 ml. Đặt bình cầu lên nồi cách thủy, loại bỏ dung môi và để nguội. Cân bình và xác định hàm lượng chất béo trong mẫu cá.

Đối với cá có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 10 %, thì chuyển 25 ml phần chất lỏng của bình định mức 250 ml sang bình làm bay hơi Kuderna-Danish 125 ml. Đối với cá chứa hàm lượng chất béo lớn hơn 10 % thì lấy phần chất lỏng chứa nhiều hơn 200 mg chất béo. Thêm vài hạt chất trợ sôi (7.3.7) và cô đặc đến khoảng 3 ml trên nồi cách thủy đun sôi. Để nguội đến nhiệt độ phòng rồi chuyển sang cột Snyder (7.4.5). Tráng bình làm bay hơi hai lần mỗi lần 1 ml dầu nhẹ và dùng dòng không khí để làm cô đặc mẫu đến 3 ml để chuyển sang cột Florisil<sup>®</sup>.

#### 7.5.2 Sắc ký cột Florisil<sup>®</sup>

Cho 4 g Florisil (7.3.6) vào ống sắc ký (7.4.1) và phủ một lớp 1 cm natri sulfat (7.3.5) lên đỉnh cột. Đánh dấu cột ở vị trí cách lớp natri sulfat 1 cm và làm ướt sơ bộ với khoảng từ 20 ml đến 25 ml dầu nhẹ (7.3.1).

Khi dung môi chạm tới vạch, đặt bình làm bay hơi (7.4.2) dưới cột. Chuyển dung dịch thu được từ 7.5.1 sang cột (7.3.4), rửa ống bằng 1 ml dầu nhẹ cho vào cột. Đảm bảo mức của dung môi không ở dưới mức đã đánh dấu. Tạm thời khóa vòi, nếu cần. Thêm 35 ml hỗn hợp rửa giải A (7.3.3) và rửa giải PCB và DDT và các đồng phân của chúng.

Khi dung môi chạm tới vạch, thay bình làm bay hơi và thêm 35 ml hỗn hợp rửa giải B (7.3.4) để rửa giải các hợp chất như dieldrin và endrin. Thêm vài hạt chất trợ sôi vào mỗi bình làm bay hơi và gắn cột Snyder (7.4.5) và cho bay hơi cẩn thận trên nồi cách thủy. Để nguội bình làm bay hơi, tháo cột Snyder và cho bay hơi dung môi dưới dòng nitơ nhẹ đến một thể tích thích hợp cho sắc ký khí. Các phân đoạn chứa các hỗn hợp PCB và các hợp chất clo như DDE có thể cần đến các kỹ thuật tách chiết bổ sung.

### 7.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

## 7.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 7.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 8 Phương pháp D: Sắc ký cột trên Florisil® đã bắt hoạt từng phần (Stijve) [4]

### 8.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 20 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa, các chất tương tự PCB và 6 thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Phương pháp này cho qui trình sàng lọc nhanh đối với các loạt mẫu vì chỉ cần một bước làm sạch. Đối với một số loại thực phẩm cụ thể thì phần chất béo không cần phải chiết riêng vì việc chiết chất béo được kết hợp với làm sạch bằng sắc ký cột. Tuy nhiên, có thể cần làm sạch thêm dịch chiết khi xác định các dư lượng ở các nồng độ rất thấp.

### 8.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu bằng một trong các qui trình trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Cô đặc dịch chiết gần như đến khô, rồi hòa tan lại trong dầu nhẹ. Cho chạy sắc ký dung dịch trên cột Florisil sử dụng dầu nhẹ/diclométan để rửa giải. Để phân tích sữa, các sản phẩm sữa, trứng, bột trứng, bột cacao, socola hoặc sản phẩm tương tự, trộn một lượng sản phẩm chứa đến 1 g chất béo với Florisil® và cho hỗn hợp này lên đỉnh cột Florisil® để đồng thời chiết chất béo và chạy sắc ký. Trong cả hai trường hợp, cô dịch rửa giải gần như đến khô rồi hòa tan trong dầu nhẹ để xác định bằng sắc ký khí.

### 8.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

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

**8.3.2 Diclométan.**

**8.3.3 Hỗn hợp rửa giải,** dầu nhẹ (8.3.1) và diclométan (8.3.2) với tỷ lệ 4:1 (thể tích).

**8.3.4 Iso-octan.**

**8.3.5 Florisil®,** 150 µm đến 250 µm (60 mesh đến 100 mesh).

Nung qua đêm ở 500 °C, để nguội rồi bảo quản trong vật chứa có nắp đậy kín. Trước khi sử dụng, nung ở 130 °C ít nhất 5 h và để nguội trong bình hút ẩm sau đó thêm 3 phần nước cất vào 97 phần (khối lượng) chất hấp phụ. Lắc hỗn hợp ít nhất 20 min và bảo quản trong vật chứa kín khí ít nhất từ 10 h đến 12 h. Sử dụng trong vòng 3 ngày.

**8.3.6 Bông thủy tinh**, được chiết hoàn toàn bằng diclometan và được sấy khô ở 130 °C.

## **8.4 Thiết bị, dụng cụ**

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

**8.4.1 Ống sắc ký**, có đường kính trong 22 mm, dài 25 mm, đĩa thủy tinh xếp hoặc nút bông thủy tinh, vòi khóa PTFE hoặc thủy tinh và bình 300 ml ở đầu cột.

**8.4.2 Ống sắc ký**, có đường kính trong 8 mm, dài 20 mm, đĩa thủy tinh xếp hoặc nút bông thủy tinh, vòi khóa PTFE hoặc thủy tinh và bình 30 ml ở đầu cột.

**8.4.3 Bộ cô quay**, có các bình làm bay hơi dung tích 500 ml và nổi cách thủy kiểm soát được nhiệt độ từ 20 °C đến 50 °C.

**8.4.4 Bình định mức**, có dung tích thích hợp, ví dụ: 5 ml, 10 ml hoặc 20 ml.

## **8.5 Cách tiến hành**

### **8.5.1 Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật và PCB**

#### **8.5.1.1 Yêu cầu chung**

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Các phương pháp đặc biệt được tiến hành theo 8.5.1.2 đến 8.5.1.6.

#### **8.5.1.2 Sữa và sữa đặc không đường**

Cân 10 g mẫu cho vào cốc có mỏ 250 ml và thêm từng phần nhỏ của 25 g Florisil (8.3.5). Vừa thêm Florisil® vừa khuấy bằng đĩa thủy tinh cho đến đồng nhất, thu được dạng bột chảy tự do. Đảm bảo rằng hỗn hợp không chứa các cục vón.

#### **8.5.1.3 Sữa đặc có đường**

Trộn kỹ 10 g mẫu với 5 ml nước cất. Thêm 25 ml Florisil® (8.3.5) như trong 8.5.1.2.

#### **8.5.1.4 Sữa bột và thức ăn từ sữa dành cho trẻ sơ sinh**

Hoà tan hoàn toàn 3 g mẫu vào 10 ml nước cất ở 40 °C. Thêm 25 g Florisil® (8.3.5) như mô tả trong 8.5.1.2.

### 8.5.1.5 Trứng

Làm vỡ trứng cho vào cốc thủy tinh có mỡ. Loại bỏ vỏ và đồng hóa. Trộn 2 g đến 5 g trứng đã đồng hóa với 5 ml đến 8 ml nước cất. Thêm 25 ml Florisil® (8.3.5) như trong 8.5.1.2.

### 8.5.1.6 Bột trứng, bột cacao, socola

Trộn kỹ 1 g đến 3 g (tùy theo hàm lượng chất béo) mẫu thử với 10 ml nước cất ấm. Thêm 25 ml Florisil® (8.3.5) như trong 8.5.1.2.

### 8.5.2 Sắc ký cột Florisil

Nút bông thủy tinh vào cột sắc ký (8.4.1), cho 100 ml dầu nhẹ (8.3.1) và thêm từ từ 25 g Florisil® (8.3.5). Để yên cho Florisil® lắng và làm ráo dầu nhẹ đến mức còn khoảng 5 mm trên đỉnh cột.

Hòa tan 0,5 g đến 1 g dầu hoặc mỡ hoặc dịch chiết chất béo trong 10 g dầu nhẹ, chuyển hết dung dịch sang cột và để ráo trên đỉnh cột nhồi.

Khi kiểm tra sữa, sản phẩm sữa, trứng, bột trứng, bột cacao, socola hoặc các sản phẩm tương tự thì cho hỗn hợp mẫu và Florisil® thu được từ 8.5.1.2 đến 8.5.1.6 sang cột trong khi lượng dầu nhẹ khoảng 50 ml.

Rửa giải với 300 ml hỗn hợp rửa giải (8.3.3) với tốc độ không quá 5 ml/min và thu lấy dịch rửa giải vào bình cầu đáy tròn 1000 ml. Cho cô quay dịch rửa giải đến 50 ml, chuyển phần cô đặc này sang bình cầu đáy tròn 100 ml rồi cô đặc đến khoảng 5 ml. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại bỏ dung môi còn lại. Dùng các lượng nhỏ dầu nhẹ để chuyển phần cô đặc còn lại sang bình định mức hoặc ống chia độ, pha loãng tiếp bằng dầu nhẹ đến một thể tích thích hợp, ví dụ: 5 ml.

**CHÚ THÍCH 1** Không cần phải làm đến khô dịch chiết đã tinh sạch. Lớp màng dầu nhẹ cuối cùng không ảnh hưởng đến kết quả vì trong quá trình này diclometan gần như đã bay hơi hoàn toàn.

**CHÚ THÍCH 2** Để phân tích một vài hợp chất clo hữu cơ thì hiệu quả làm sạch có thể đạt được bằng phương pháp nêu trong IDF Standard 75 C:1991 [11] dùng silicagel thay cho Florisil®.

### 8.5.3 Sắc ký cột Florisil – Qui trình ở qui mô nhỏ

Vì những lý do kinh tế, phương pháp mô tả trong 8.5.2 có thể được cải biến thành qui trình ở qui mô nhỏ [9] chỉ sử dụng một phần mười Florisil® (8.3.5) và dung môi.

Cân khoảng 1,00 g chính xác đến 10 mg, dầu, mỡ hoặc dịch chiết chất béo cho vào bình định mức 20 ml. Pha loãng bằng dầu nhẹ (8.3.1) đến vạch mức và trộn kỹ. Nút một lượng nhỏ bông thủy tinh vào ống sắc ký (8.4.2). Cho 15 ml dầu nhẹ vào cột và thêm từ từ 3,0 g Florisil. Dùng đĩa thủy tinh gõ nhẹ vào thành cột để cho chất hấp phụ kín cột. Khi Florisil đã lắng, tháo bớt dầu nhẹ cho đến khi còn khoảng 5 mm trên đỉnh cột.

Dùng pipet định mức 2 ml chuyển một lượng (tương đương với 100 mg mẫu) dung dịch chất béo sang cột Florisil. Để dung dịch ngấm và rửa giải dư lượng bằng 30 ml hỗn hợp rửa giải (8.3.3).

**CHÚ THÍCH** Kết thúc việc rửa giải không ít hơn 15 min.

Thu lấy dịch rửa giải vào bình cầu đáy tròn 100 ml và cô quay đến khi còn khoảng 2 ml. Dùng dòng nitơ nhẹ để loại bỏ dung môi còn lại. Dùng pipet định mức 2 ml bổ sung iso-octan vào dư lượng, đậy nắp và xoay bình.

## 8.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

## 8.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 8.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

# 9 Phương pháp E: Sắc ký cột trên nhôm oxit đã bất hoạt từng phần (Greve & Grevenstuk) [5]

## 9.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 20 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa, các chất tương tự PCB như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Phương pháp này không thể áp dụng nếu PCB có mặt với các nồng độ vượt quá 0,5 mg/kg tính theo chất béo.  $\beta$ -endosulfan không được thu hồi thỏa đáng.

## 9.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu bằng một trong các qui trình trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Cô đặc dịch chiết gần như đến khô, rồi hòa tan lại trong dầu nhẹ. Cho chạy sắc ký dung dịch trên cột nhôm oxit sử dụng dầu nhẹ để rửa giải. Cô đặc dịch rửa giải để xác định bằng sắc ký khí.

## 9.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

### 9.3.1 Axeton.

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



**9.3.3 Natri sulfat**, dạng hạt khan, được nung ở 550 °C ít nhất 2 h.

**9.3.4 Nhôm oxit**, có hoạt độ Brockman loại I (= 1 % nước), dùng cho sắc ký. Cho 8,8 phần nước vào 100 phần nhôm oxit tính theo khối lượng. Lắc cho đến khi hết vón cục. Để yên ít nhất 24 h. Hàm lượng nước của sản phẩm cuối cùng phải 9,0 %. Kiểm tra hoạt độ của sản phẩm bằng dung dịch chuẩn  $\beta$ -hexacloxylohexan ( $\beta$ -HCH). Độ thu hồi phải đạt 99,0 % hoặc lớn hơn.

## 9.4 Thiết bị, dụng cụ

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

**9.4.1 Bộ cô Kuderna-Danish** hoặc loại tương đương.

**9.4.2 Bộ trộn tốc độ cao**, được gắn với bình thủy tinh kín và động cơ chống nổ.

**9.4.3 Máy ly tâm**, loại chống nổ, có các ống thủy tinh hoặc cốc trộn dung tích khoảng 200 ml, trong đó các ống có thể quay ở tần số từ 1000 min<sup>-1</sup> đến 3000 min<sup>-1</sup>.

**9.4.4 Ống sắc ký**, có đường kính trong 6 mm, dài 17,5 mm, có vòi khóa PTFE và bình chứa dung môi dung tích nhỏ nhất là 25 ml.

## 9.5 Cách tiến hành

### 9.5.1 Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật và PCB

#### 9.5.1.1 Yêu cầu chung

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996).

Các phương pháp đặc biệt được tiến hành theo 9.5.1.2 đến 9.5.1.4.

#### 9.5.1.2 Bơ

Làm nóng bơ đến 65 °C trong 4 h đến 8 h cho đến khi chất béo tách rõ, gạn chất béo qua giấy lọc khô, ẩm. Hòa tan chất béo trong dầu nhẹ (9.3.2) sao cho dung dịch thu được có chứa 40 mg/ml đến 50 mg/ml chất béo.

#### 9.5.1.3 Sữa

Trộn trong bộ trộn 40 ml sữa với 80 ml axeton (9.3.1) và 80 ml dầu nhẹ (9.3.2). Cho ly tâm hỗn hợp. Lọc phần nước ví dụ: 10 ml của lớp dầu nhẹ (phía trên) qua natri sulfat (9.3.3) và rửa natri sulfat bằng một ít dầu nhẹ. Cô đặc dung dịch trong bộ cô quay sao cho dung dịch cuối cùng chứa 35 mg/ml đến 50 mg/ml chất béo.

#### 9.5.1.4 Phomat

Trộn trong bộ trộn 20 g đến 25 g phomat với 50 ml dầu nhẹ (9.3.2). Lọc dung dịch qua natri sulfat (9.3.3) và rửa natri sulfat bằng một ít dầu nhẹ. Cô đặc dung dịch trong bộ cô quay sao cho dung dịch cuối cùng chứa 35 mg/ml đến 50 mg/ml chất béo.

#### 9.5.2 Sắc ký cột nhôm oxit

Nút bông thạch anh vào đầu ra của cột sắc ký (9.4.4), cho 4,0 g nhôm oxit đã bất hoạt từng phần (9.3.4) vào cột và dùng đũa thủy tinh gỗ nhẹ vào thành cột để nhồi kín cột. Chuyển 2 ml dung dịch thu được từ 9.5.1 sang cột. Tráng bình ba lần mỗi lần dùng 1 ml dầu nhẹ (9.3.2). Rửa giải cột bằng 25 ml dầu nhẹ, thu lấy dịch rửa giải vào ống chia độ. Cô dịch rửa giải đến thể tích thích hợp.

Để thu được độ thu hồi tốt, đặc biệt là  $\beta$ -HCH, thì phải sử dụng ít nhất 70 mg chất béo trên cột 4,0 g nhôm oxit. Cột này cũng có thể giữ được 100 mg chất béo. Nếu dùng các lượng chất béo lớn hơn (ví dụ: khi độ nhạy của detector không đủ), thì phải tăng các lượng nhôm oxit và dầu nhẹ tương ứng. Có thể dễ dàng làm sạch đến 250 mg chất béo.

#### 9.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

#### 9.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

#### 9.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

### 10 Phương pháp F: Sắc ký thẩm thấu gel (GPC) (AOAC) [6]

#### 10.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 18 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa trong mỡ động vật (mỡ bò, gia cầm và lợn) như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Phương pháp này có thể áp dụng cho các thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất tương tự PCB khác.

#### 10.2 Nguyên tắc

Hòa tan chất béo trong xyclohexan/diclometan và chạy sắc ký sử dụng cột thẩm thấu gel, với dung môi rửa giải là xyclohexan/diclometan. Cô đặc dịch rửa giải đến gần khô rồi hòa tan lại trong iso-octan để xác định bằng sắc ký khí.

### 10.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

#### 10.3.1 Cyclohexan.

#### 10.3.2 Diclometan.

#### 10.3.3 Iso-octan.

10.3.4 Hỗn hợp rửa giải, cyclohexan (10.3.1) và diclometan (10.3.2) với tỷ lệ 1:1 (thể tích).

### 10.4 Thiết bị, dụng cụ

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

10.4.1 **Dụng cụ tự động dùng cho GPC**, ví dụ Autoprep®1001 hoặc 1002<sup>3</sup>, được gắn với cột sắc ký dài 60 cm, đường kính trong 25 mm và các vòng lấy mẫu 2 ml, 3 ml và 5 ml; cột nhồi bằng 60 g nhựa BioBead S-X3<sup>®4</sup>, đã được làm trương nở trước qua đêm trong hỗn hợp rửa giải, khoảng 48 cm.

10.4.2 **Bộ cô quay**, có các bình làm bay hơi dung tích 500 ml và nồi cách thủy có thể kiểm soát được nhiệt độ từ 20 °C đến 50 °C.

### 10.5 Cách tiến hành

#### 10.5.1 Chiết chất béo và thuốc bảo vệ thực vật

##### 10.5.1.1 Yêu cầu chung

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996).

##### 10.5.1.2 Các phương pháp đặc biệt

Cho khoảng 40 g mẫu vào phễu thủy tinh (đường kính 8 cm) có chứa nút bông thủy tinh. Đặt phễu vào cốc có mỏ rồi đặt trên bếp điện ở nhiệt độ tối đa 110 °C cho đến khi chất béo ngừng nhỏ giọt. Trộn kỹ.

<sup>3</sup> GPC Autoprep®1001 hoặc 1002 là tên thương mại của sản phẩm được cung cấp bởi các Phòng thí nghiệm hoá sinh phân tích, Columbia, USA. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và CEN không ấn định sử dụng sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu chúng cho kết quả tương tự.

<sup>4</sup> Nhựa BioBead S-X3<sup>®</sup> là tên thương mại của sản phẩm được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm bức xạ sinh học Richmond, Ca, USA. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và CEN không ấn định sử dụng sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu chúng cho kết quả tương tự.

## 10.5.2 Làm sạch bằng GPC

Khi sử dụng cột GPC, cần chỉnh tốc độ của hỗn hợp rửa giải đến 5 ml/min và kiểm tra việc hiệu chuẩn về thu hồi bằng 2,0 g dầu ngô đã bổ sung các hợp chất có liên quan. Xác định thời gian thải và thu nhận các dư lượng mong muốn.

Cân khoảng 2 g, chính xác đến 10 mg mẫu chất béo dạng lỏng cho vào bình định mức 10 ml, pha loãng đến vạch bằng hỗn hợp rửa giải và trộn kỹ. Ly tâm hoặc lọc nếu thấy có các hạt. Dùng vòng lấy mẫu 5 ml lấy khoảng 7 ml dung dịch. Rửa giải cột GPC bằng hỗn hợp rửa giải, sử dụng các thời gian thu nhận/thải đã được xác định trước, với tốc độ 5 ml/min.

Thu lấy dịch rửa giải vào bình cầu đáy tròn 250 ml và cho cô quay đến khô ở 30 °C. Dùng các lượng nhỏ iso-octan để chuyển lượng còn lại sau khi bay hơi sang bình định mức hoặc ống chia độ, dùng iso-octan để chỉnh dung dịch đến thể tích thích hợp, ví dụ: 5 ml.

## 10.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

## 10.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 10.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 11 Phương pháp G: Sắc ký thẩm thấu gel (GPC) và sắc ký cột trên silica gel đã bất hoạt từng phần (Specht) [7]

### 11.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 24 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa, các chất tương tự PCB và 13 thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

GPC là kỹ thuật chiết rất hiệu quả đối với các dư lượng cần phân tích từ các lipid. Kỹ thuật này bao trùm dải rộng các hợp chất. Vì lý do này mà dịch rửa giải bằng kỹ thuật GPC cũng chứa các dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và các chất nhiễm bẩn khác với các loại được đề cập trên đây, ví dụ: pyrethroid và các benzen đã clo hóa hoặc các phenol, ngoài ra GPC có thể thực hiện tự động. Có thể sử dụng cột mini silica gel để làm sạch bổ sung và tách phân đoạn các dư lượng theo độ phân cực của chúng, do đó cung cấp thông tin bổ sung cho việc nhận biết.

## 11.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu bằng một trong các qui trình trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Cô đặc dịch chiết gần đến khô, rồi hòa tan lại trong xyclohexan/etyl axetat. Cho chạy sắc ký dung dịch trên cột thẩm thấu gel, sử dụng xyclohexan/etyl axetat để rửa giải. Cô đặc dịch rửa giải gần đến khô, rồi hòa tan lại trong *n*-hexan. Cho chạy sắc ký dung dịch trên cột nhỏ silica gel đã bất hoạt từng phần, sử dụng các dịch rửa giải có độ phân cực tăng dần. Cô đặc dịch rửa giải để phân tích sắc ký khí.

## 11.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

### 11.3.1 Xyclohexan.

### 11.3.2 Etyl axetat.

### 11.3.3 Hỗn hợp rửa giải GPC, xyclohexan (11.3.1) và etyl axetat (11.3.2) với tỷ lệ 1 : 1 (thể tích).

### 11.3.4 Axeton.

### 11.3.5 Iso-octan.

### 11.3.6 *n*-hexan.

### 11.3.7 Toluen.

### 11.3.8 Chất rửa giải 1, *n*-hexan (11.3.6) và toluen (11.3.7) với tỷ lệ 65 : 35 (thể tích).

### 11.3.9 Chất rửa giải 2, toluen (11.3.7).

### 11.3.10 Chất rửa giải 3, toluen (11.3.7) và axeton (11.3.4) với tỷ lệ 95 : 5 (thể tích).

### 11.3.11 Natri sulfat, dạng hạt khan, được nung ở 550 °C ít nhất 2 h.

### 11.3.12 Silica gel, đã bất hoạt với 1,5 % nước.

Nung silica gel 60 (63 μm đến 200 μm hay 70 mesh đến 230 mesh) ở 130 °C ít nhất 5 h, để nguội trong bình hút ẩm và bảo trong vật chứa có nắp đậy kín để trong bình hút ẩm. Dùng buret nhỏ từng giọt 1,5 ml nước vào 98,5 g silica gel khô đựng trong bình nón 300 ml có khớp nối mài, vừa thêm vừa xoay bình. Đậy ngay nắp bình bằng nút thủy tinh mài và lắc mạnh bình trong 5 min cho đến khi tan hết các mảng vón cục. Lắc tiếp 2 h trên máy lắc cơ học rồi bảo quản trong vật chứa kín khí.

## 11.4 Thiết bị, dụng cụ

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

**11.4.1 Dụng cụ tự động dùng cho GPC**, ví dụ Autoprep®1001 hoặc 1002, được gắn với cột sắc ký dài 60 cm, đường kính trong 25 mm và các vòng lấy mẫu 2 ml, 3 ml và 5 ml; cột nhồi bằng 50 g nhựa BioBead S-X3® (38  $\mu\text{m}$  đến 75  $\mu\text{m}$  hay 200 mesh đến 400 mesh), đã được làm trương nở trước qua đêm trong hỗn hợp rửa giải, khoảng 32 cm.

**11.4.2 Bộ cô quay**, có các bình làm bay hơi dung tích 500 ml và nồi cách thủy có thể kiểm soát được nhiệt độ từ 20 °C đến 50 °C.

**11.4.3 Ống sắc ký**, đường kính trong 7 mm, dài 23 cm, có đầu ra được kéo dài.

## 11.5 Cách tiến hành

### 11.5.1 Chiết chất béo và thuốc bảo vệ thực vật

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996).

### 11.5.2 Sắc ký thẩm thấu gel

Khi sử dụng cột GPC, cần chỉnh tốc độ của hỗn hợp rửa giải đến 5 ml/min và kiểm tra việc hiệu chuẩn các hợp chất có liên quan. Xác định thời gian thải dịch ban đầu và thời gian thu nhận các dư lượng mong muốn.

Hòa tan 5 g dầu hoặc mỡ hoặc dịch chiết chất béo trong hỗn hợp rửa giải GPC (11.3.3) trong bình định mức. Pha loãng đến vạch bằng cùng một hỗn hợp và trộn kỹ. Dùng vòng lấy mẫu 5 ml lấy khoảng 7 ml dung dịch. Rửa giải cột GPC bằng hỗn hợp rửa giải GPC, sử dụng các thời gian thu nhận/thải dịch ban đầu đã được xác định trước, với tốc độ 5 ml/min.

Thu lấy dịch rửa giải vào bình cầu đáy tròn 250 ml và cho cô quay đến khoảng 1 ml (quay chậm và chỉ nhúng nhẹ bình), chuyển dịch cô đặc sang ống chia độ có nút mài, dùng etyl axetat để tráng và để pha loãng đến thể tích thích hợp, ví dụ: 5 ml.

**CHÚ THÍCH** Để phân tích nhóm thuốc bảo vệ thực vật phospho hữu cơ, có thể bơm trực tiếp dịch rửa giải GPC để xác định bằng sắc ký khí, nếu sử dụng detector chọn lọc phospho.

### 11.5.3 Sắc ký cột mini silica gel

Dùng pipet lấy 2,5 ml dung dịch thu được từ 11.5.2 cho vào bình cầu đáy tròn có khớp nối mài và thêm 5 ml iso-octan (11.3.5). Cho bay hơi cẩn thận đến 1 ml (không khô hẳn) trong bộ cô quay (quay chậm và chỉ nhúng nhẹ bình). Nếu dung dịch vẫn còn mùi etyl axetat thì thêm tiếp iso-octan và lặp lại quá trình làm bay hơi.

Nhồi cột sắc ký (11.4.3) theo thứ tự sau: nút bông thủy tinh, 1,0 g silica gel đã bất hoạt (11.3.12), 5 mm đến 10 mm lớp natri sulfat (11.3.11), nút bông thủy tinh. Trước khi sử dụng, tráng cột bằng 5 ml *n*-hexan (11.3.6) và loại bỏ dịch rửa giải. Ngay khi hexan đã cạn trên đỉnh của silica gel, dùng pipet lấy dung dịch iso-octan thu được từ việc làm bay hơi dung dịch mẫu (11.5.2) cho lên cột silica gel đã rửa trước. Tráng với khoảng 1 ml *n*-hexan. Tráng bình cầu bằng 2 ml chất rửa giải 1 (11.3.8) và ngay khi *n*-hexan đã ráo trên đỉnh cột nhồi, cho nước tráng này vào cột. Từ lúc này, thu lấy dịch rửa giải vào ống chia độ. Rửa giải tiếp bằng 6 ml chất rửa giải 1 và làm đầy ống bằng chất rửa giải 1 đến thể tích 10 ml (dung dịch rửa giải 1).

Tráng lại bình làm bay hơi bằng 2 ml toluen. Sau đó cho nước rửa này sang cột. Thu lấy dịch rửa giải vào ống chia độ thứ hai và rửa giải bằng 6 ml toluen. Làm đầy ống đến 10 ml bằng toluen (dung dịch rửa giải 2). Tiếp tục cho chạy sắc ký bằng cùng qui trình với chất rửa giải 3. Tráng bình bằng 2 ml, rửa giải tiếp bằng 6 ml và pha loãng đến thể tích 10 ml (dung dịch rửa giải 3).

Luôn kiểm tra để đảm bảo hiệu quả của việc tách sử dụng dung dịch chuẩn thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ. Với điều kiện là hoạt tính của silica gel đã được chỉnh đúng, HCB và lindan được rửa giải trong dung dịch rửa giải 1, endosulfan sulfat và dieldrin trong dung dịch rửa giải 2, mỗi loại tương ứng có độ thu hồi 100 %. Heptaclo epoxit và  $\alpha$ -endosulfan sẽ được rửa giải trong cả hai phần. Các hợp chất phân cực như clofenvinpho và diazinon có trong dung dịch rửa giải 3.

Để tách các chất tương tự PCB từ phần lớn các thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ, thì việc rửa giải silica gel bằng chất rửa giải 1 có thể được thực hiện tiếp bằng việc rửa giải với 10 ml *n*-hexan [10]. Các chất tương tự PCB sẽ được rửa giải bằng *n*-hexan (dung dịch rửa giải 0).

## 11.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

## 11.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 11.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 12 Phương pháp H: Sắc ký thẩm thấu gel hiệu năng cao (HPGPC) (MAFF) [8]

### 12.1 Khả năng áp dụng

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định 20 dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và các chất chuyển hóa, các chất tương tự PCB và 18 thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ như trong Phụ lục A của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

HPGPC là kỹ thuật chiết rất hiệu quả đối với các dư lượng cần phân tích từ các lipid. Kỹ thuật này bao trùm dải rộng các hợp chất. Vì lý do này mà dịch rửa giải bằng kỹ thuật HPGPC cũng chứa các dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và các chất nhiễm bẩn khác với các loại được đề cập trên đây, ví dụ: pyrethroid. Ngoài ra, HPGPC có thể thực hiện tự động khi máy sắc ký được gắn hệ thống bơm tự động.

## 12.2 Nguyên tắc

Chiết các dư lượng cùng với chất béo ra khỏi mẫu bằng một trong các qui trình trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996). Cô đặc dịch chiết gần đến khô, rồi hòa tan lại trong hexan/isopropanol. Cho chạy sắc ký sử dụng cột HPGPC, sử dụng hexan/isopropanol làm dung môi rửa giải. Cô đặc dịch rửa giải gần đến khô, rồi hòa tan lại trong hexan để phân tích sắc ký khí.

## 12.3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và PCB và phải phù hợp với Điều 4 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996). Nếu cần phải tinh sạch thì thực hiện theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A.

### 12.3.1 Axeton

### 12.3.2 *n*-hexan.

### 12.3.3 Iso-propanol.

### 12.3.4 Propylen glycol.

### 12.3.5 Hỗn hợp rửa giải *n*-hexan (12.3.2) và iso-propanol (12.3.3) với tỷ lệ 80:20 (thể tích).

### 12.3.6 Dung dịch hãm, axeton (12.3.1) và propylen glycol (12.3.4) với tỷ lệ 95:5 (thể tích).

## 12.4 Thiết bị, dụng cụ

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

**12.4.1** Hệ thống HPGPC, được trang bị một bơm (có thể phân phối dung môi với tốc độ 2,3 ml/min), bơm tay hoặc hệ thống bơm tự động (vòng cố định 1 ml), bộ phận làm nóng cột (để ở  $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  và hai cột sắc ký thẩm thấu gel PLRP-S<sup>5</sup>, dài 30 cm, đường kính trong 7,5 mm và cỡ hạt 8  $\mu\text{m}$ , các lỗ có đường kính 100 Å hoặc tương tự, được nối với nhau thành hàng.

<sup>5</sup> PLRP-S là tên thương mại của sản phẩm được cung cấp bởi Phòng thí nghiệm về hợp chất cao phân tử, Road Essex, Church Stretton, Shropshire, SY6 6AX, UK. Thông tin này được đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng; còn CEN không ấn định sử dụng sản phẩm này, có thể sử dụng các loại khác nếu cho các kết quả tương đương.



## 12.5 Cách tiến hành

### 12.5.1 Chiết chất béo và thuốc bảo vệ thực vật

Thực hiện các phương pháp chung theo TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996).

### 12.5.2 Làm sạch

Khi sử dụng cột HPGPC, cần chỉnh tốc độ của hỗn hợp rửa giải đến 2 ml/min và kiểm tra việc hiệu chuẩn các hợp chất có liên quan. Xác định thời gian thải dịch ban đầu và thu nhận các dư lượng mong muốn.

Hòa tan 1,25 g dầu hoặc mỡ hoặc dịch chiết chất béo trong hỗn hợp rửa giải (12.3.5), pha loãng đến 5,0 ml bằng cùng loại hỗn hợp trong bình định mức và trộn kỹ. Chuyển dung dịch sang lọ của bộ lấy mẫu tự động và bơm 1,0 ml dung dịch này sang cột HPGPC. Rửa giải cột HPGPC bằng hỗn hợp rửa giải, sử dụng các thời gian thu nhận/thải dịch ban đầu đã được xác định trước, với tốc độ 2 ml/min. Thu lấy dịch rửa giải vào bình cầu đáy tròn, thêm 0,1 ml dung dịch hãm (12.3.6) và xoay bình để trộn.

Cho bay hơi dịch rửa giải đến khoảng 2 ml, dùng dòng khí oxi không chứa nitơ. Chuyển dịch cô đặc sang bình định mức 2 ml và tiếp tục cô đến 1 ml. Tráng bình cầu đáy tròn với 1 ml *n*-hexan và cho nước rửa vào bình định mức. Lặp lại quá trình bay hơi dùng dòng khí nitơ, pha loãng bằng *n*-hexan đến vạch và trộn kỹ.

## 12.6 Tiến hành xác định

Tiến hành xác định theo Điều 7 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996) và Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

## 12.7 Đánh giá kết quả

Các kết quả được đánh giá theo Điều 9 đến Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## 12.8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm theo Điều 12 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

## Phụ lục A

(Tham khảo)

### Tinh sạch một số dung môi

Axeton	Được chưng cất trên các viên bi thủy tinh
Axetonitril	4000 ml axetonitril được trộn với 1 ml axit octophosphoric và 30 g phospho pentoxit trong bình thủy tinh đáy tròn. Các viên bi thủy tinh được bổ sung và hỗn hợp được chưng cất ở 81 °C đến 82 °C (không để nhiệt độ cao quá 82 °C).
Dietyl ete	Được chưng cất trên các viên bi thủy tinh
Dimetylformamid	Được chưng cất trên các viên bi thủy tinh
Dầu nhẹ	Được chưng cất trên kali hydroxit hoặc natri hydroxit
<i>n</i> -hexan	Được chưng cất trên natri hydroxit

## Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Cunniff, P. (Ed): Official Methods of Analysis of the AOAC INTERNATIONAL, 16th edition, Arlington VA USA 1995, Vol 1, Chapter 10, pp. 1-10, Method No. 970.52.
- [2] Specht, W.: Organochlorine and organophosphorus pesticides. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Vol 1, pp. 309-319, Method S10.
- [3] Cunniff, P. (Ed): Official Methods of Analysis of the AOAC INTERNATIONAL, 16th edition, Arlington VA USA 1995, Vol 1, Chapter 10, pp. 11-12, Method No. 983.21.
- [4] Stijve, T.: Organochlorine and organophosphorus pesticides. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Vol 1, pp. 297-308, Method S 9.
- [5] Greve, PA., and Grevenstuk, W.B.F.: Meded. Fac. Landbouwwet (Gent) 40, pp. 1115-1124 (1975), cited in: Analytical Methods for Residues in Foodstuffs, 5th edition, The Hague 1988, Vol.1, pp. 12-15, Multi-Residue Method 1, submethod 5.
- [6] Cunniff, P. (Ed): Official Methods of Analysis of the AOAC INTERNATIONAL, 16th edition, Arlington VA USA 1995, Vol 1, Chapter 10, pp. 12-13, Method No. 984.21.
- [7] Specht, W.: Organochlorine, organophosphorus, nitrogen-containing and other pesticides. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Vol 1, pp. 75-78 and pp. 383400, Clean-up Method 6 and Method S19.
- [8] UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Analysis of pesticide residues in products of animal origin, Method FScLPest-1 (23.4.91).
- [9] Stijve, T, and Brand, E.: Dtsch. Lebensm. Rundsch. 73, pp. 41- 42 (1977).
- [10] Specht, W., and Tillkes, M.: Fresenius Z. Anal Chem. 322, pp. 443- 455 (1985).
- [11] IDF-Standard 75 C: 1991 Milk and milk products — Recommended methods for determination of organochlorine compounds (Pesticides).