

Lời nói đầu

TCVN 8170-2 : 2009 hoàn toàn tương đương với EN 1528-2 : 1996;

TCVN 8170-2 : 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.*

Lời 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 trong 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. Trong nhiều trường hợp, các dư lượng được biểu thị bằng miligam thuốc bảo vệ thực vật trên kilogam chất béo [xem Điều 11 của TCVN 8170-1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996)]. Trong các trường hợp này không cần thiết phải xác định hàm lượng chất béo của sản phẩm, nhưng cần đo dư lượng trong phần khối lượng đã biết của chất béo đã chiết. Với tất cả các sản phẩm khác, thì các mức dư lượng được báo cáo lại trên toàn bộ sản phẩm và do đó cần phải xác định phần trăm chất béo của sản phẩm.

Thực phẩm chứa chất béo – Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polyclobiphenyl (PCB) –

Phần 2: Chiết chất béo, thuốc bảo vệ thực vật, PCB và xác định hàm lượng chất béo

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

Part 2: Extraction of fat, pesticides and PCBs, and determination of fat content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các qui trình chiết tách phần chất béo có chứa thuốc bảo vệ thực vật và các dư lượng polyclobiphenyl (PCB) từ các nhóm khác nhau của thực phẩm chứa 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 polyclobiphenyl (PCB) – Phần 1: Yêu cầu chung.*

TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996), *Thực phẩm chứa chất béo – Xác định thuốc bảo vệ thực vật và polyclobiphenyl (PCB) – Phần 3: Phương pháp làm sạch.*

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

3 Nguyên tắc

Chiết tách các dư lượng ra khỏi chất nền mẫu bằng các dung môi thích hợp, sao cho thu được hiệu quả chiết tối đa của dư lượng và tối thiểu các chất bị chiết cùng mà có thể gây nhiễu cho phép xác

định. Loại bỏ hết các dung môi bằng cách làm cho bay hơi và xác định hàm lượng chất béo bằng cách cân khối lượng còn lại, nếu cần.

4 Thuốc thử và vật liệu

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). Tinh sạch theo các qui trình thích hợp nêu trong Phụ lục A, nếu cần.

4.1 Axeton.

4.2 Axetonitril.

4.3 Dietyl ete, không chứa peroxit.

4.4 Diclometan.

4.5 Hỗn hợp chiết, axetonitril (4.2) + diclometan (4.4) với tỷ lệ 75 : 25 (thể tích).

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

4.7 Metanol hoặc etanol.

4.8 *n*-hexan.

4.9 Huyền phù enzym, huyền phù phospholipaza C, 800 IU/ml¹ trong dung dịch amoni sulfat (3,2 mol/l). Bảo quản ở 1 °C đến 4 °C (không làm đông lạnh).

4.10 Dung dịch đậm glyxin, nồng độ glyxin 0,2 mol/l, chứa kẽm sulfat với nồng độ 0,1 g/l .

4.11 Dung dịch natri sulfat, 2 g/100 ml.

4.12 Dung dịch natri clorua, bão hòa.

4.13 Natri oxalat hoặc kali oxalat.

4.14 Natri sulfat, dạng hạt khan. Nung ở 500 °C đến 550°C ít nhất 4 h trước khi sử dụng và làm nguội trong bình hút ẩm.

4.15 Chất trợ lọc, ví dụ: Celite® 545². Nung ở 400 °C ít nhất 4 h trước khi sử dụng và làm nguội trong bình hút ẩm và bảo quản trong chai kín khí.

¹ IU (Đơn vị Quốc tế hay đơn vị chuẩn) được định nghĩa là lượng enzym xúc tác chuyển hoá 1 µmol cơ chất trong một phút ở các điều kiện chuẩn.

² Celite® 545 là ví dụ về mỗi sản phẩm thích hợp có bán sẵn. thông tin này đưa ra nhằm tạo thuận lợi cho người sử dụng sản phẩm này và tổ chức CEN không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

4.16 Cát biển, đã rửa bằng axit. Nung ở 400 °C ít nhất 4 h trước khi sử dụng và làm nguội trong bình hút ẩm.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Cân phân tích, thích hợp để cân trong phạm vi từ 0,01 g đến 1 000 g.

5.2 Cân phân tích, thích hợp để cân trong phạm vi từ 0,1 mg đến 1 g.

5.3 Máy ly tâm, loại chống nổ, có các ống thủy tinh dung tích từ 200 ml đến 500 ml, trong đó các ống có thể quay ở tần số quay từ 1000 min⁻¹ đến 2000 min⁻¹ hoặc lớn hơn.

5.4 Máy ly tâm lạnh, loại chống nổ, được làm lạnh đến âm 15 °C, có các ống thủy tinh dung tích từ 50 ml đến 300 ml, trong đó các ống có thể quay ở tần số quay từ 1000 min⁻¹ đến 3000 min⁻¹ hoặc lớn hơn.

5.5 Máy nghiền loại dùng cho thực phẩm có nguồn gốc từ động vật (máy xay thực phẩm).

5.6 Máy trộn tốc độ cao, có bình thủy tinh kín, motor chống nổ hoặc bộ đồng hóa.

5.7 Máy Vortex hoặc dụng cụ quay trộn ống nghiệm.

5.8 Tủ sấy, có thể kiểm soát được nhiệt độ trong dải nhiệt độ môi trường đến 250 °C.

5.9 Lò nung, có thể duy trì nhiệt độ từ 400 °C đến 600 °C.

5.10 Lò vi sóng (tùy chọn).

5.11 Tủ lạnh, để bảo quản mẫu chiết.

5.12 Bộ cát 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.

5.13 Thiết bị chiết Soxhlet, gồm:

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

b) buồng chiết, dung tích khoảng 200 ml;

c) bộ sinh hàn hồi lưu;

d) nguồn nhiệt (ví dụ: có vỏ gia nhiệt).

5.14 Bể cách cát hoặc nồi cách thủy, có thể kiểm soát được nhiệt độ trong dải nhiệt độ môi trường đến 100 °C.

5.15 Chai thủy tinh bo silicat, dung tích 250 ml.

5.16 Ống chiết, gồm có ống thủy tinh đường kính trong 12 mm, dài 300 mm, có ống thoát mao quản phía dưới và đoạn phía trên dài 100 mm với đường kính trong 50 mm.

5.17 Ống chiết măng sông (tùy chọn). Việc sử dụng ống này có thể hay gây nhiễm bẩn cho chất chiết mẫu (các pic nhiễu trong sắc ký đồ). Do đó, cần được chiết sơ bộ bằng dung môi có độ tinh khiết cao và bảo quản trong chai thủy tinh.

5.18 Phễu chiết, dung tích 500 ml và 1000 ml.

5.19 Phễu thủy tinh xốp, dung tích 80 ml, đường kính đĩa 4 cm.

5.20 Bình định mức, có dung tích thích hợp, ví dụ: 5 ml, 10 ml.

5.21 Bông sợi và bông thủy tinh, tinh khiết về hóa học. Chiết để làm sạch bằng *n*-hexan/axeton trước khi sử dụng và bảo quản trong bình có nắp đậy kín.

5.22 Giấy lọc, dạng tròn, đường kính khoảng 30 cm, đã được rửa bằng dung môi.

5.23 Cối và chày.

6 Cách tiến hành

6.1 Sữa

6.1.1 Chiết theo AOAC [1], [2]

Thêm 100 ml etanol hoặc metanol (4.7) và 1 g natri oxalat hoặc kali oxalat (4.13) vào 100 ml sữa dạng lỏng đựng trong ống ly tâm 500 ml (5.3) và trộn. Thêm 50 ml dietyl ete (4.3) và lắc mạnh trong 1 min. Thêm 50 ml dầu nhẹ (4.6) và lắc mạnh trong 1 min. Ly tâm khoảng 5 min ở khoảng 1500 min⁻¹. Hút lớp dung môi sang phễu chiết 1 l có chứa 500 ml đến 600 ml nước và 30 ml dung dịch natri clorua bão hòa (4.12). Chiết lại dư lượng hai lần, lắc mạnh với 50 ml hỗn hợp của dietyl ete/dầu nhẹ với tỷ lệ 1 : 1 (thể tích). Ly tâm và hút lớp dung môi sang phễu chiết sau mỗi lần chiết. Trộn cẩn thận các phần dịch chiết thu được với nước. Làm ráo và loại bỏ nước. Rửa lại lớp dung môi hai lần mỗi lần 100 ml nước, loại bỏ nước sau mỗi lần rửa. (Nếu hình thành nhũ tương, thì thêm khoảng 5 ml dung dịch natri clorua bão hòa vào dung môi hoặc gộp với nước rửa). Cho phần dung môi qua cột natri sulfat khan (4.14), có kích thước 50 mm x 25 mm đường kính ngoài, thu lấy dịch rửa giải vào cốc có mỏ dung tích 400 ml. Rửa cột bằng các lượng nhỏ dầu nhẹ và cho bay hơi hỗn hợp các dịch chiết thu được ở nhiệt độ hơi nước dưới dòng không khí để thu lấy chất béo.

bông thủy tinh đã được phủ natri sulfat. Cho cất quay pha *n*-hexan ở 35 °C đến khoảng 1 ml và dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

6.1.4.2 Chiết thuốc bảo vệ thực vật và PCB

Cân hai phần chất béo (tối đa 0,5 g) trong các ống ly tâm, thêm 3 ml hỗn hợp chiết (4.5) và trộn bằng máy Vortex. Ly tâm ở 3000 min⁻¹ trong 20 min ở âm 15 °C. Tách pha bằng cách gạt lớp phía trên sang ống nghiệm. Làm ấm phần chất béo còn lại trên đáy ống ly tâm cho đến tan chảy sử dụng lò vi sóng hoặc nồi cách thủy và lặp lại việc chiết sử dụng 3 ml hỗn hợp chiết. Thu lấy pha hữu cơ và dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư ở 35 °C.

CHÚ THÍCH Kinh nghiệm cho thấy ly tâm ở âm 10 °C là thích hợp nhất.

6.2 Bơ

6.2.1 Chiết theo AOAC [1]

Làm ấm mẫu thử trong cốc có mỏ trong khoảng từ 50 °C đến 60 °C cho đến khi chất béo tách pha rõ. Gạt phần chất béo tan chảy qua giấy lọc khô hoặc nút bông thủy tinh.

6.2.2 Chiết phân đoạn [4]

Đồng hóa 20 g mẫu thử với 250 ml hỗn hợp *n*-hexan và axeton với tỷ lệ 3:1 (thể tích). Lắc pha hữu cơ trong phễu chiết với 250 ml dung dịch natri sulfat (4.11). Chuyển và cho bay hơi pha hữu cơ trong bộ cất quay ở khoảng 50 °C dưới áp suất thấp. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

6.2.3 Chiết bằng cách ly tâm lạnh [5]

Làm ấm mẫu thử trong cốc có mỏ đến khoảng 40 °C và ly tâm ở 1000 min⁻¹. Gạt chất béo đã tan chảy qua giấy lọc khô.

Tiến hành tiếp như trong 6.1.4.2.

6.3 Phomat và sản phẩm sữa

6.3.1 Chiết bằng thiết bị Soxhlet [2], [3]

Làm nóng bình cầu đáy tròn dung tích 500 ml có chứa năm viên bi thủy tinh đến 105 °C trong 30 min trong tủ sấy, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Lặp lại cho đến khi thu được khối lượng không đổi, nghĩa là đến khi chênh lệch giữa hai lần cân không vượt quá 0,01 g.

Thái nhỏ phomat và cân các sản phẩm sữa trực tiếp trên mặt kính đồng hồ.

Cho mẫu (khoảng 10 g) vào cối nghiền và nghiền kỹ cùng với Celit® 545 (4.15) hoặc với hỗn hợp (thường khoảng 40 g) cát biển (4.16) và natri sulfat (4.14) tỷ lệ 1:1 để tạo ra dạng bột rời. Lượng

cát/natri sulfat yêu cầu phụ thuộc vào lượng mẫu và hàm lượng nước của mẫu. Chuyển hết lượng bột này sang giấy lọc gấp nếp (5.22).

Lau sạch cối, chày và mặt kính đồng hồ bằng búi bông sợi (5.21) đã tẩm dầu nhẹ (4.6) (xem chú thích). Đặt búi bông này trên giấy lọc và đặt vào thiết bị chiết Soxhlet.

Cho 250 ml dầu nhẹ vào bình định mức 500 ml đã cân trước (xem chú thích) và Chiết hồi lưu mẫu trong 6 h. Loại dung môi trong bộ cất quay ở khoảng 50 °C dưới áp suất thấp. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

CHÚ THÍCH Ngoài thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ và PCB, thì khi phân tích các thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ hòa tan, cần dùng dietyl ete để thay cho dầu nhẹ khi chiết bằng Soxhlet.

Về các khía cạnh an toàn, xem 4.3 trong TCVN 8170 -1 : 2009 (EN 1528-1 : 1996).

6.3.2 Chiết theo AOAC [1]

Cho từ 25 g đến 100 g mẫu đã cắt miếng (có được 3 g chất béo), 2 g natri oxalat hoặc kali oxalat (4.13) và 100 ml etanol hoặc metanol (4.7) vào bộ trộn tốc độ cao và trộn trong 2 min đến 3 min. (Theo kinh nghiệm, với sản phẩm tạo nhũ tương thì ly tâm sẽ không làm vỡ được thì cứ 2 g mẫu thêm 1 ml nước trước khi trộn). Rót sang ống ly tâm 500 ml, thêm 50 ml dietyl ete (4.3) và lắc mạnh trong 1 min. Sau đó thêm 50 ml dầu nhẹ (4.6) và lắc mạnh trong 1 min (hoặc chia sang các chai 250 ml và chiết từng chai bằng cách lắc mạnh trong 1 min với 25 ml dung môi). Ly tâm trong khoảng 5 min ở 1500 min⁻¹ và tiến hành theo 6.1.1.

6.3.3 Chiết hồi lưu [6]

Trộn kỹ từ 10 g đến 30 g (tùy thuộc vào hàm lượng chất béo) của mẫu đã thái nhỏ hoặc phomat đã nghiền nhỏ với một lượng natri sulfat (4.14) lớn gấp hai đến ba lần. Chuyển hỗn hợp sang bình nón 250 ml và chiết liên tục bốn lần, mỗi lần 100 ml hỗn hợp của diclometan (4.4) và axeton (4.1) với tỷ lệ 2 : 1 (thể tích) bằng cách đun nóng hồi lưu 15 min. Cho bay hơi các dịch chiết thu được. Hòa tan dư lượng còn lại sau bay hơi trong 20 ml dầu nhẹ (4.6), gạn cẩn thận dung dịch qua nút bông thủy tinh cho vào bình cầu đáy tròn 50 ml, cho bay hơi dung dịch ở khoảng 50 °C dưới áp suất giảm. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

6.3.4 Chiết bằng cột [3]

Tiến hành theo 6.1.2.

6.3.5 Chiết bằng ly tâm lạnh [5]

Cho 10 g natri sulfat (4.14) và 50 ml *n*-hexan (4.8) vào 10 g phomat. Đồng hóa và ly tâm trong 5 min ở 1500 min⁻¹. Gạn dung dịch phía trên và lặp lại việc chiết với 50 ml *n*-hexan. Gộp cả hai phần dịch chiết,

cho cất quay lớp *n*-hexan ở 35 °C đến khi còn khoảng 1 ml và dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

Tiến hành tiếp như trong 6.1.4.2.

6.4 Thịt, sản phẩm thịt, thủy sản và sản phẩm thủy sản

6.4.1 Chiết bằng cột [3]

Tiến hành tiếp như trong 6.1.2.

6.4.2 Chiết bằng thiết bị Soxhlet [2], [3]

Tiến hành tiếp như trong 6.3.1.

6.4.3 Chiết hồi lưu [6]

Nghiền thành bột 25 g mẫu đã xay nhỏ, với 100 g natri sulfat (4.14) trong cối và chuyển hết sang bình cầu đáy tròn có khớp nối bằng thủy tinh mài. Chiết hồi lưu liên tiếp hỗn hợp bốn lần, mỗi lần với 100 ml dầu nhẹ đang sôi (4.6) trong 10 min. Cho bay hơi hỗn hợp dịch chiết trong bộ cất quay ở khoảng 50 °C dưới áp suất thấp. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

6.4.4 Chiết phân đoạn đối với sản phẩm thịt [4]

Thái nhỏ và nghiền mẫu trong máy nghiền thực phẩm. Chuyển 30 g mẫu vào cốc có mỏ 500 ml và thêm một lượng vừa đủ natri sulfat (4.14) để thu được hỗn hợp bột rời. Thêm 300 ml hỗn hợp *n*-hexan (4.8) và axeton (4.1) với tỷ lệ 2 : 1 (thể tích), chuyển sang cốc trộn và trộn hỗn hợp trong 3 min. Gạn dịch chiết qua phễu chiết có nút bằng bông sợi vào phễu chiết 1000 ml (5.18). Chiết lặp lại với 150 ml của hỗn hợp *n*-hexan và axeton với tỷ lệ 2:1 (thể tích) và gạn dịch chiết qua bông sợi vào phễu chiết. Thêm 250 ml dung dịch natri sulfat (4.11) và lắc phễu trong 30 s. Để yên cho tách lớp và gạn bỏ lớp nước phía dưới. Rửa lớp phía trên trong phễu chiết với một phần 250 ml khác của dung dịch natri sulfat. Cho lớp *n*-hexan đi qua phễu thủy tinh xốp (5.19) có chứa khoảng 20 g natri sulfat cho vào bình cầu đáy tròn và cho bay hơi dung dịch trong bộ cất quay ở khoảng 50 °C dưới áp suất thấp. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

6.4.5 Chiết phân đoạn đối với cá và cua ghe [4]

Ngâm mẫu mô tuyến tụy của cua ghe hoặc ruột cá trong bộ trộn và trộn kỹ mẫu. Cân khoảng 25 g đối với cua hoặc 100 g đối với cá. Cho 200 g natri sulfat (4.14) và dùng đũa khuấy cho đến khi thu được hỗn hợp dạng khô rời. Thêm 200 ml hỗn hợp *n*-hexan (4.8) và axeton (4.1) với tỷ lệ 3 : 1 (thể tích), và đun hồi lưu nóng 20 min trong khi vẫn khuấy liên tục. Rót dung môi sang phễu chiết chứa 500 ml dung dịch natri sulfat (4.11). Tiến hành chiết thêm hai lần nữa, mỗi lần dùng 150 ml hỗn hợp *n*-hexan và axeton (4.1) với tỷ lệ 3 : 1 (thể tích). Gộp tất cả các dịch chiết cho vào phễu chiết. Lắc phễu chiết 30 s và để yên cho tách pha. Rút bỏ lớp chất lỏng phía dưới. Thêm tiếp 500 ml dung dịch natri sulfat và lặp

lại qui trình rửa. Cho lớp hữu cơ còn lại đi qua phễu thủy tinh xốp (5.19) có chứa khoảng 15 g natri sulfat vào bình cầu đáy tròn và cho bay hơi dung dịch trong bộ cất quay ở khoảng 50 °C dưới áp suất thấp. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

6.4.6 Chiết bằng cách cho ly tâm lạnh [5]

6.4.6.1 Thịt và cá

Cho 10 g natri sulfat (4.14) và 50 ml *n*-hexan (4.8) vào 20 g thịt hoặc cá. Đồng hóa và ly tâm trong 5 min ở 1500 min⁻¹. Gạn dung dịch phía trên và lặp lại việc chiết với 50 ml *n*-hexan. Gộp cả hai phần dịch chiết, cho bay hơi lớp *n*-hexan ở 35 °C cho đến khi còn khoảng 1 ml và dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

Tiến hành tiếp như trong 6.1.4.2.

6.4.6.2 Mỡ động vật

Làm ấm mẫu trong cốc có mỡ đến khoảng 50 °C. Gạn phần chất béo đã tan chảy qua giấy lọc khô ở khoảng 50 °C.

Tiến hành tiếp như trong 6.1.4.2.

6.5 Trứng

6.5.1 Chiết bằng cột [3]

Làm vỡ trứng cho vào cốc thủy tinh có mỡ. Gạn bỏ vỏ và đồng hóa. Tiến hành tiếp như trong 6.1.2.

6.5.2 Chiết bằng thiết bị Soxhlet [2], [3]

Làm vỡ trứng cho vào cốc có mỡ bằng thủy tinh. Gạn bỏ vỏ và đồng hóa. Tiến hành tiếp theo 6.3.1.

6.5.3 Chiết phân đoạn bao gồm cả xử lý phospholipaza C [4]

Làm vỡ trứng cho vào cốc có mỡ bằng thủy tinh. Gạn bỏ vỏ và đồng hóa. Cân chính xác 20 g mẫu cho vào bình bo silicat (5.15), thêm 10 ml dung dịch đệm glyxin (4.10) và 50 µl huyền phù enzym (4.9). Ủ ở 37 °C ± 1 °C trong 2 h, khuấy trộn kỹ. Chuyển mẫu sang cốc có mỡ 600 ml, thêm 250 ml hỗn hợp *n*-hexan (4.8) và axeton (4.1) với tỷ lệ 3 : 1 (thể tích) và đồng hóa trong 2 min. Để yên cho tách pha rồi gạn hỗn hợp dung môi qua phễu có chứa nút bông sợi rồi cho vào phễu chiết 500 ml có chứa 250 ml dung dịch natri sulfat (4.11). Thêm tiếp 50 ml hỗn hợp *n*-hexan và axeton vào cốc có mỡ, khuấy trộn nhẹ rồi gạn sang phễu chiết. Lắc 30 s. Để yên cho tách pha. Gạn bỏ lớp nước phía dưới, quay phễu chiết để loại bỏ nước còn bám trên thành bình và cho lớp phía trên đi qua phễu thủy tinh xốp (5.19) có chứa khoảng 20 g natri sulfat. Cho bay hơi dung dịch trong bộ cất quay ở khoảng 50 °C dưới áp suất thấp. Dùng dòng khí nitơ nhẹ để loại dung môi dư.

7 Xử lý tiếp theo

Việc xử lý tiếp theo phải phù hợp với TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996) và TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

8 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 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 và thuốc thử

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
Etanol	Được chưng cất trên các viên bi thủy tinh
Dầu nhẹ	Được chưng cất trên kali hydroxit hoặc natri hydroxit
Metanol	Được chưng cất trên các viên bi thủy tinh
n-hexan	Được chưng cất trên natri hydroxit
Natri sulfat	Được nung ở 500 °C ít nhất 4 h và làm nguội trong bình hút ẩm.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Curauff, 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] Beck, H., and Mathar, W.: Bundesgesundheitsbl 28, pp. 1-12 (1985).
- [4] UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Analysis of pesticide residues in products of animal origin, Method FScLPest-1 (23.4.91).
- [5] Venant, A., Borrel, S., and Richou-Bac, L: Methode rapide pour la detennination des residus de composes organochlores dans ies produits laitiers et les grasses animales. Analysis 10, pp. 333-335 (1982).
- [6] Styve, 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.