

Lời nói đầu

TCVN 8170-1 : 2009 hoàn toàn tương đương với EN 1528-1 : 1996;

TCVN 8170-1 : 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 ở Châu Âu. Bất kỳ thay đổi nào trong các phương pháp được sử dụng cũng cần phải cho các kết quả tương đương.

Thực phẩm chứa chất béo –

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

Phần 1: Yêu cầu chung

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

Part 1: General

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các phương pháp xác định các dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và các polyclobiphenyl (PCB) trong các sản phẩm thực phẩm chứa chất béo. Mỗi một phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này thích hợp để nhận dạng và định lượng dải xác định của các thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ và/hoặc clo hữu cơ không phân cực còn lại trong dầu và mỡ cũng như trong phần chất béo của thực phẩm chứa chất béo, có nguồn gốc từ động vật và thực vật. Các chất tương tự PCB thường được chọn để buộc phải tuân thủ các mức dư lượng tối đa (MRL) được xác định theo thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ.

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:

- Phương pháp A: Phân tách lỏng-lỏng với axetonitril và làm sạch trên cột Florisil^{®1} (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].

¹ 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.

– 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].

Khả năng áp dụng của tám phương pháp từ A đến H về phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ, các chất tương tự PCB và nhóm phospho hữu cơ tương ứng được đưa ra trong Bảng A.1. Khi không có kí hiệu + là do không có số liệu, nhưng điều này không nhất thiết phải loại trừ khả năng áp dụng.

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 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996), *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.*

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.*

ISO 1750, *Pesticides and other agrochemicals – Common names (Thuốc bảo vệ thực vật và hoá chất nông nghiệp khác – Tên thông dụng).*

CHÚ THÍCH Xem thêm các tiêu chuẩn về xác định hàm lượng chất béo, lấy mẫu sản phẩm và chuẩn bị mẫu thử.

3 Nguyên tắc

3.1 Yêu cầu chung

Các phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này gồm có bốn giai đoạn (trong một số trường hợp hai giai đoạn có thể gộp lại với nhau, toàn phần hoặc từng phần) như trong 3.2 đến 3.5.

3.2 Chiết

Chiết tách các dư lượng ra khỏi mẫu thử 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.

CHÚ THÍCH Khuyến cáo dùng các phương pháp chiết chất béo mà đồng thời có thể dùng để xác định chất béo và phân tích dư lượng trong phần chất béo đó.

3.3 Làm sạch

Loại bỏ tối đa các chất gây nhiễu mà không làm thất thoát tối thiểu chất phân tích từ mẫu, sao cho thu được dung dịch dư lượng đã chiết trong dung môi thích hợp cho việc định lượng bằng phương pháp được chọn.

3.4 Xác định

Sử dụng máy sắc ký khí (GC) có các detector khác nhau, ví dụ: detector bắt giữ electron (ECD), detector nhiệt ion (P- hoặc N/P-), detector đo quang ngọn lửa (FPD), detector Hall hoặc khối phổ (MS), thích hợp.

3.5 Khẳng định

Các qui trình khẳng định việc nhận biết và định lượng các dư lượng, đặc biệt là trong các trường hợp khi vượt quá mức dư lượng tối đa.

4 Thuốc thử

4.1 Yêu cầu chung

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải có độ tinh khiết cao (nghĩa là loại dùng cho phân tích dư lượng) và nước được sử dụng phải là nước cất hoặc nước đã loại khoáng, nếu không đáp ứng được các yêu cầu trên thì chưng cất lại nước, các dung môi và thuốc thử theo qui định trong Phụ lục B và kiểm tra lại độ tinh khiết (xem 4.2). Chú ý rằng các nhựa trao đổi ion được dùng cho nước loại khoáng có thể là nguồn gốc gây nhiễu. Tinh sạch và định kỳ hoạt hóa các chất hấp phụ theo yêu cầu của các phương pháp phân tích khác nhau rồi kiểm tra lại độ tinh khiết của chúng (xem 4.2).

Hết sức chú ý để tránh các vật liệu chất dẻo và cao su làm nhiễm bẩn nước, các dung môi, các chất hấp phụ... Nếu có chất gây nhiễu trong phép thử trắng về thuốc thử thì kiểm tra lại độ tinh khiết của tất cả các thuốc thử được sử dụng.

4.2 Kiểm tra độ tinh khiết của thuốc thử

4.2.1 Dung môi

Cô đặc các dung môi theo hệ số đưa ra trong phương pháp được dùng. Kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký khí dưới các điều kiện như được sử dụng trong phương pháp. Sắc ký đồ không được có tạp chất gây nhiễu nào. Chiết hoặc cô đặc axetonitril, dimetylformamid và diclometan với cùng thể tích như được dùng trong phương pháp và xác định dung dịch tạo thành như trên bằng sắc ký khí.

4.2.2 Nước

Chiết 10 phần thể tích nước với một phần thể tích *n*-hexan hoặc dầu nhẹ, diclometan hoặc bất kỳ dung môi không thể trộn lẫn với nước được sử dụng trong phương pháp. Tách pha hữu cơ, cô đặc theo hệ

số trong các phương pháp tương ứng và kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký khí dưới cùng một điều kiện đã dùng trong phương pháp. Sắc ký đồ phải không có bất kỳ tạp chất gây nhiễu nào.

4.2.3 Muối vô cơ

Các muối vô cơ được chiết, ví dụ: natri clorua, sau khi làm sạch theo Phụ lục B hoặc theo yêu cầu của các phương pháp phân tích khác và các dung dịch lỏng được sử dụng, bằng n-hexan hoặc dầu nhẹ, diclometan hoặc bất kỳ dung môi không thể trộn lẫn với nước được sử dụng trong phương pháp. Cô đặc phần chiết theo hệ số trong các phương pháp tương ứng và kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký khí dưới cùng một điều kiện đã dùng trong phương pháp. Sắc ký đồ phải không có bất kỳ tạp chất gây nhiễu nào.

4.2.4 Chất hấp phụ

Giải hấp lượng chất hấp phụ tương đương bằng lượng được dùng trong phương pháp với loại và lượng các dung môi tương ứng. Cô đặc dịch rửa giải đến thể tích như được dùng trong phương pháp và kiểm tra độ tinh khiết bằng sắc ký khí. Sắc ký đồ phải không có bất kỳ tạp chất gây nhiễu nào. Định kỳ kiểm tra hoạt tính của chất hấp phụ, ví dụ như trong 5.3.9 của TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996).

4.2.5 Dung dịch và vật liệu chuẩn

Dùng vật liệu có độ tinh khiết tối thiểu 95 % và có chất lượng theo tiêu chuẩn để phân tích dư lượng.

Cần đảm bảo rằng các dung dịch pha loãng được chuẩn bị và kiểm tra thường xuyên và dung dịch chuẩn được bảo quản trong các chai thủy tinh và để trong tủ lạnh và cần lưu ý tránh gây nhiễm bẩn từ vật liệu bằng chất dẻo và cao su. Cần đảm bảo không để ánh sáng mặt trời và tia cực tím chiếu trực tiếp vào các dung dịch chuẩn. Kiểm tra độ tinh khiết dung dịch chuẩn phân tích.

Khi được bảo quản ở âm 20 °C thì các vật liệu chuẩn này có thể bền từ 1 đến 2 năm. Để cân bằng đến nhiệt độ phòng các vật liệu chuẩn trước khi mở các vật chứa. Dung dịch gốc có nồng độ 1 mg/ml, nếu được giữ trong tủ lạnh ở nhiệt độ khoảng 4 °C thì có thể bền từ 2 tháng đến 3 tháng.

CHÚ THÍCH 1 Thể tích thay đổi do dung môi bay hơi, ví dụ: do khoảng trống phía trên vật chứa giữa nắp thủy tinh và cổ bình có thể là nguồn gây sai số.

CHÚ THÍCH 2 Kinh nghiệm cho thấy rằng các sai số do trong quá trình chuẩn bị, thao tác và bảo quản các chất chuẩn và các dung dịch chuẩn là nguồn chính gây sai số. Cần lưu ý kinh nghiệm của quốc gia, khu vực và quốc tế.

4.3 Khía cạnh an toàn liên quan đến thuốc thử

4.3.1 Yêu cầu chung

Việc phân tích thuốc bảo vệ thực vật và các dư lượng tương tự PCB trong các chất nền thực phẩm có sử dụng các hóa chất độc hại.

Các trình tự trong 4.3.2 nêu ra các chú ý về an toàn thích hợp cần phải tuân theo trong suốt quá trình phân tích.

4.3.2 Thuốc bảo vệ thực vật và các hợp chất PCB

Nhiều loại thuốc bảo vệ thực vật cực kỳ độc theo nhiều đường tiếp xúc khác nhau, đặc biệt là khi ở dạng đậm đặc. Ví dụ, họ thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ có tính độc rất cao, không chỉ qua đường miệng mà còn qua da cũng như hít phải. Suốt thời gian làm việc với các chất chuẩn, các dung dịch chuẩn... phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về an toàn. Tham khảo các bảng cảnh báo về an toàn hoặc các nhãn về thông tin bổ sung.

a) Thực hiện tất cả các thao tác về lấy mẫu phòng thử nghiệm, trộn, cân, ... trong thiết bị hút tốt đặt trong khu vực thông gió cưỡng bức tốt, hoặc mang mặt nạ phòng độc đúng cách. Nếu sử dụng mặt nạ phòng độc, thì thay cartridge theo khuyến cáo, vì khi sử dụng mặt nạ phòng độc bị nhiễm bẩn thì sẽ có hại hơn.

b) Không để thuốc bảo vệ thực vật và các hợp chất PCB tiếp xúc với da. Cần phải mặc áo quần bảo vệ và mang găng tay không thấm nước (như găng tay bằng polyetylen). Rửa sạch tay bằng xà phòng và nước để tránh làm nhiễm bẩn thực phẩm.

c) Ghi nhãn rõ ràng tên và nồng độ của thuốc bảo vệ thực vật trên các vật chứa.

d) Nghiên cứu và có sẵn các thông tin về các triệu chứng ngộ độc và xử lý sơ bộ đối với từng loại thuốc bảo vệ thực vật đang tiếp xúc.

e) Tham khảo ý kiến của bác sỹ về các biện pháp phòng ngừa và giải độc trong trường hợp khẩn cấp khi bị ngộ độc thuốc bảo vệ thực vật.

f) Tuân thủ qui trình loại bỏ chất thải thuốc bảo vệ thực vật. Có thể liên hệ với nhà sản xuất để có lời khuyên về các vấn đề thải bỏ.

g) Không vào các phòng thử nghiệm đang làm việc với dư lượng thuốc bảo vệ thực vật hoặc các phòng thử nghiệm khác, sau khi xử lý các chế phẩm thuốc bảo vệ thực vật cho đến khi kết thúc công việc và tháo bỏ áo quần bảo vệ, găng tay bảo vệ và tay đã được rửa bằng xà phòng với nước.

4.3.3 Thuốc thử độc hại

Không để bay hơi các thuốc thử đậm đặc đến mức có thể gây cháy trong khu vực làm việc, vì không thể loại bỏ được tất cả khả năng của các tia lửa từ tĩnh điện, thậm chí qua thiết bị điện tiếp đất. Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả để loại bỏ hơi đã giải phóng.

Hơi của một số dung môi có độc tính cao. Một số dung môi này dễ hấp thụ qua da. Dùng các thiết bị hút có hiệu quả để loại bỏ hơi của các dung môi đã giải phóng.

Danh mục các thuốc thử độc hại được nêu trong Bảng 1.

5 Thiết bị, dụng cụ

5.1 Dụng cụ thủy tinh: Yêu cầu chung

Làm sạch tất cả các dụng cụ thủy tinh được sử dụng để phân tích dư lượng. Có thể sử dụng dung dịch chất tẩy rửa nóng để làm sạch nhưng sau đó các dụng cụ thủy tinh phải được tráng kỹ bằng nước cất và axeton trước khi sấy khô. Khi sử dụng máy rửa dụng cụ, thì dùng nước để tráng dụng cụ thủy tinh đã rửa bằng axeton. Rửa trong máy với chất tẩy rửa không chứa clo, tráng bằng nước rồi làm khô. Trong cả hai trường hợp, kiểm tra đảm bảo rằng chất tẩy rửa không để lại chất gây nhiễu nào. Khuyến cáo rằng ngay trước khi sử dụng, tráng lại dụng cụ thủy tinh bằng dung môi sẽ được sử dụng.

Các dụng cụ thủy tinh hoặc dụng cụ thông thường của phòng thử nghiệm như cốc có mỏ, bình cầu đáy tròn, mặt kính đồng hồ, pipet, giấy lọc, bông thủy tinh... không được liệt kê trong thiết bị, dụng cụ của từng phương pháp.

5.2 Dụng cụ thủy tinh đặc biệt

5.2.1 Ống nghiệm hình chóp, thích hợp để làm bay hơi, được gắn với khớp nối thủy tinh mài 14 mm, dung tích khoảng 15 ml, dài 80 mm đến 90 mm, cần thiết để cô đặc lần cuối. Tốt nhất là đã được hiệu chuẩn và có thể được gắn với các cột micro-Sneyder [11].

5.2.2 Ống sắc ký, có nút đậy bằng thủy tinh hoặc polytetrafluoretylen (PTFE) được qui định trong hầu hết các phương pháp. Đỉnh của cột cần có khớp nối thủy tinh mài để cho phép gắn bộ chuyển đổi áp suất hoặc bầu chứa dung môi.

5.3 Chất phụ trợ

Rửa sạch giấy lọc, đĩa thủy tinh và các viên bi thủy tinh bằng dung môi tinh khiết trước khi sử dụng, nếu cần. Chiết bông thủy tinh, bông sợi, và bông thạch anh bằng *n*-hexan và axeton hoặc bằng bất kỳ dung môi thích hợp khác bằng bộ chiết Soxhlet, cho đến khi hết hẳn chất gây nhiễu.

Các dung dịch thường được giảm đến thể tích nhỏ cuối cùng bằng cách cho dòng khí nitơ đi qua. Không sử dụng ống bằng polyvinyl clorua (PVC) hoặc cao su cho mục đích này. Ống bằng nylon hoặc polytetrafluoretylen (PTFE) cho thấy ít nguy cơ gây nhiễm bẩn.

Không sử dụng các nút bằng chất dẻo thông thường, ví dụ như PVC để đậy các chất chuẩn và các dung dịch vì chúng có thể gây nhiễm bẩn. Các chất này cần được đậy bằng nút thủy tinh hoặc PTFE. Tương tự, không sử dụng các phễu chiết có nắp đậy bằng chất dẻo. Dùng nút PTFE hoặc thủy tinh để thay cho các nút chất dẻo.

Bảng 1 – Các thuốc thử độc hại

Tên thuốc thử	Các vấn đề	Nhận xét	Giải pháp
Axeton	Rất dễ cháy	Hình thành các peroxit gây nổ với thuốc thử oxi hóa	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Axetonitril	Độc	Tránh tiếp xúc với da và mắt	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Xyclohexan	Rất dễ cháy		Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Diclometan	Độc	Tránh tiếp xúc với mắt. Tránh hít phải hơi	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Dietyl ete	Các peroxit không bền có thể tạo thành khi để lâu hoặc khi tiếp xúc với ánh nắng mặt trời. Cực kỳ dễ cháy	Bảo quản tránh ánh sáng	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả. Xem thêm chú thích về peroxit
Dimetylformamid	Độc. Dễ cháy	Tránh tiếp xúc với da và mắt. Có thể phản ứng rất mạnh với hydrocacbon halogenat hóa	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Etanol	Dễ cháy		Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả khi gia nhiệt và làm bay hơi
Etyl axetat	Dễ cháy, đặc biệt khi bị bay hơi	Kích thích mắt và đường hô hấp	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
n-hexan	Rất dễ cháy		Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Isooctan	Rất dễ cháy		Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Dầu nhẹ	Cực kỳ dễ cháy		Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả
Metanol	Dễ cháy. Độc	Tránh tiếp xúc với mắt. Tránh hít phải hơi. Có thể gây phản ứng mạnh hơn với natri hoặc kali hydroxit với cloroform	Sử dụng thiết bị hút có hiệu quả

CHÚ THÍCH Peroxit tạo ra trong dietyl ete, dioxan và các ete khác trong quá trình bảo quản. Chúng là chất gây nổ và cần được phá hủy trước khi chưng cất hoặc cho bay hơi. Tiếp xúc với ánh sáng sẽ làm tăng việc hình thành peroxit trong ete. Lọc qua nhôm oxit đã hoạt hóa để loại bỏ các peroxit.

5.4 Bộ cô dung môi

5.4.1 Yêu cầu chung

Các bộ cô dung môi phải có nồi cách thủy ổn định nhiệt độ, có thể kiểm soát được dải nhiệt độ môi trường đến 100 °C và tốt nhất là có bộ phận kiểm soát chân không.

Cần kiểm tra định kỳ hiệu quả của bộ cô dung môi về việc thất thoát dư lượng bay hơi. Có thể sử dụng chất giữ (ví dụ: propylen glycol, *n*-undecan hoặc hexadecan) để giảm thiểu sự thất thoát thuốc bảo vệ thực vật trong các trường hợp cụ thể.

Có thể sử dụng các bộ cô dung môi (5.4.2 đến 5.4.4) để cô các lượng dung môi lớn. Đối với các lượng nhỏ, thì sử dụng dòng nitơ nhẹ khô, tinh khiết.

5.4.2 Bộ cô Kuderna-Danish [12] (hoặc loại tương đương) có hoặc không có cột phân tách, được làm nóng trên nồi cách thủy điều nhiệt.

5.4.3 Bộ cô quay dạng màng (có bán sẵn), có nguồn chân không và có thể được làm nóng đến 50 °C.

5.4.4 Bộ cô quay chân không (có bán sẵn), quay ở tốc độ 1300 min⁻¹, có nguồn chân không và có nồi cách thủy điều nhiệt.

5.5 Bộ đồng hóa

Nếu sử dụng bộ đồng hóa thì chú ý để đảm bảo rằng chúng chắn được tia lửa và không bị nhiễm bẩn. Kiểm tra máy giảm về rò rỉ ở đáy bộ truyền. Nhiều vết hàn kín có thể là nguồn gốc của sự nhiễm bẩn.

5.6 Máy ly tâm

Có thể sử dụng các máy ly tâm chống nổ, nếu cần, trong đó có các ống ly tâm có vài trăm mililit chất nhũ hóa có thể quay ở tần số quay từ 2000 min⁻¹ đến 4000 min⁻¹ hoặc lớn hơn.

5.7 Sắc ký khí

Có thể sử dụng thiết bị sắc ký khí như trong Điều 4 của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996).

6 Cách tiến hành

6.1 Yêu cầu chung

Người vận hành phải hiểu rất kỹ về phương pháp này trước khi bắt đầu phân tích. Phải tiến hành các phép thử thuốc thử trắng và phải thỏa mãn các yêu cầu. Cần tiến hành các thực nghiệm về độ thu hồi trên khắp các mức bao trùm các mức dư lượng tối đa và phải thỏa mãn yêu cầu (xem Điều 9). Ngoài ra, cần phân tích chất chuẩn thích hợp khi có thể. Cần tuân thủ chính xác qui trình đối với mỗi phép phân tích và không cho phép có sai số.

Cần tuân theo các khuyến cáo trong Điều 7 của Codex về các phương pháp phân tích dư lượng [9].

6.2 Qui trình ở qui mô nhỏ

Trong một số trường hợp, nếu các phần chiết chất béo và dư lượng chỉ được thực hiện trên các lượng nhỏ của mẫu, dung môi và vật liệu (qui trình ở qui mô nhỏ), thì chọn qui trình ở qui mô nhỏ thích hợp để làm sạch.

Tuy nhiên, nếu các kết quả thu được bằng qui trình ở qui mô nhỏ cho thấy rằng các dư lượng gần bằng hoặc vượt quá mức dư lượng tối đa, thì chọn chiết và làm sạch lần hai để khẳng định các lượng mẫu, dung môi và vật liệu lớn hơn.

6.3 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử ngay sau khi nhận được mẫu. Nếu không thực hiện được ngay thì bảo quản mẫu trong vật chứa có nắp đậy thích hợp ở nhiệt độ đông lạnh sâu, ít nhất là âm 18 °C. Đảm bảo rằng các mẫu được gửi đến phòng thử nghiệm vẫn nguyên vẹn và không bị hỏng.

Không phải khi nào cũng có thể kết thúc phép phân tích trong ngày và đôi khi cần bảo quản dịch chiết mẫu qua đêm. Trong trường hợp này, đảm bảo rằng dịch chiết mẫu ở dạng dung dịch trong dung môi khan được bảo quản ở:

- trong tủ lạnh (ở 4 °C) để trong lọ có nắp đậy kín, để ở nơi tối hoặc
- để ở nơi tối giữ trong điều kiện đông lạnh sâu ở ít nhất âm 18 °C.

Khi các dịch chiết mẫu được bảo quản qua đêm, thì phải kiểm tra dịch chiết để đảm bảo rằng chúng vẫn ổn định qua quá trình bảo quản.

Không làm gián đoạn các bước làm sạch, như sắc ký cột ... Qui định phần nào của thực phẩm cần được phân tích và chỉ rõ tỷ lệ nào của các phần này là đại diện cho toàn bộ mẫu.

6.4 Chuẩn bị phân mẫu thử

Cân lượng mẫu qui định, tốt nhất là đến phần nguyên của gam ($\pm 1\%$). Đảm bảo rằng các vật liệu đông lạnh được làm rã đông trước khi đồng hóa.

CHÚ THÍCH Trong một số trường hợp, các mẫu đông lạnh sẽ gặp phải một số vấn đề khi chiết. Mỗi giai đoạn đồng hóa cần ít nhất 2 min.

Khi các mẫu là sữa tươi hoặc các sản phẩm sữa dạng lỏng khác cần phân tích trong ít ngày thì bảo quản trong tủ lạnh ở 4 °C để tránh tách chất béo hoặc trộn kỹ và chia mẫu phòng thử nghiệm thành các lượng mẫu thử thích hợp trước khi cấp đông.

6.5 Chiết

Dư lượng cần phân tích liên quan đến phần chất béo của mẫu.

Hiệu quả của việc chiết chất béo phụ thuộc vào độ phân cực của dung môi chiết và bản chất của cơ chất.

CHÚ THÍCH TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996) đưa ra một loạt các qui trình chiết phân chất béo có chứa thuốc bảo vệ thực vật và các hợp chất PCB từ các nhóm thực phẩm chứa chất béo khác nhau.

6.6 Làm sạch

Ngoài các dư lượng thì các chất chiết thu được trong TCVN 8170-2 : 2009 (EN 1528-2 : 1996) hoặc TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996) có chứa vật liệu, kể cả các chất béo và các lipid khác, có thể gây nhiễu cho phép phân tích. Để tinh sạch các chất chiết thô hoặc chất béo và dầu cần phân tích, có thể sử dụng một vài phương pháp, kể cả phân tách, sắc ký cột hấp phụ và sắc ký thẩm thấu gel.

CHÚ THÍCH TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996) đưa ra các chi tiết của các phương pháp từ A đến H để làm sạch chất béo và dầu hoặc phân chất béo đã tách, sử dụng các kỹ thuật như phân tách lỏng-lỏng, sắc ký cột hấp phụ hoặc sắc ký cột thẩm thấu gel.

7 Cách tiến hành

7.1 Sắc ký khí

Thường sử dụng phép sắc ký khí để phân tích dư lượng.

Cần sử dụng hệ thống sắc ký khí thích hợp, tốt nhất là được trang bị các bộ gia nhiệt riêng rẽ cho bộ bơm, detector và các lò cột. Tốt nhất là nên bơm trực tiếp lên cột sắc ký. Cho dù việc lựa chọn các phần khác nhau của hệ thống sắc ký khí tùy thuộc vào kinh nghiệm của người phân tích nhưng vẫn phải tuân thủ các khuyến cáo chung đã nêu.

Các detector cần được chỉnh đúng theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Định kỳ kiểm tra sai lệch về độ nhạy của detector bằng cách kiểm tra độ tuyến tính của đường chuẩn sử dụng các dung dịch chuẩn thuốc bảo vệ thực vật.

Thiết bị sắc ký khí phải có hệ thống tích phân cho phép đo chiều cao pic lẫn diện tích pic.

Thực tế cho thấy rằng có thể thu các kết quả tương đương cho dù có sử dụng các điều kiện sắc ký khí khác nhau và các hãng thiết bị khác nhau. Mặt khác, việc qui định các thông số sắc ký khí tiêu chuẩn không đảm bảo về chất lượng của các kết quả phải giống nhau.

Xem Phụ lục B của TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996) về các điều kiện sắc ký khí.

7.2 Kiểm tra hiệu quả của việc tách

Việc tách 2,4,4',-trichlobiphenyl (số 28) từ 2, 4', 5-trichlobiphenyl (số 31) được cải thiện vì độ phân cực của pha tĩnh tăng, có thể coi như phép đo về hiệu quả tách của hệ thống sắc ký khí. Cần thực hiện các bước để đảm bảo rằng không có nhiễu giữa 2, 2', 4, 4', 5, 5'-pentachlobiphenyl (số 101) và o, p'-DDE hoặc alpha-endosulfan, giữa 2, 2', 3, 4, 4', 5'-hexachlobiphenyl (số 138) và p, p'-DDT và giữa 2, 2', 4, 5, 5'-hexachlobiphenyl (số 153) và endosulfan sulfat.

Các tên hóa học và số lượng của một số chất tương tự PCB được nêu trong Bảng 2.

Nếu cần, các pic khác cũng có thể thu được, ví dụ: đối với các chất tương tự số 105, số 118 và số 156 có thể định lượng.

Nếu có mặt campheclo trong mẫu, thì chỉ có thể tránh nhiễu khi xác định PCB sau khi tách bằng sắc ký cột như qui định trong 11.5.3 của TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996).

Nếu cần xác định aldrin, dieldrin, endrin, heptaclo hoặc heptaclo epoxit khi có mặt các hợp chất PCB, thì nên cất phân đoạn trên cột gel mini-silica theo 11.5.3 của TCVN 8170-3 : 2009 (EN 1528-3 : 1996).

Bảng 2 – Các chất tương tự PCB

Tên hóa chất	Số
1) 2, 4, 4'-triclobiphenyl	28
2) 2, 2', 5, 5'-tetraclobiphenyl	52
3) 2, 2', 4, 5, 5'-pentaclobiphenyl	101
4) 2, 2', 3, 4, 4', 5'-hexaclobiphenyl	138
5) 2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexaclobiphenyl	153
6) 2, 2', 3, 4, 4', 5, 5'-heptaclobiphenyl	180

8 Phép thử khẳng định

Cần tiến hành các phép thử khẳng định việc nhận biết và định lượng dư lượng quan sát được, đặc biệt là trong các trường hợp cho thấy kết quả vượt quá mức giới hạn tối đa.

Các phương pháp mô tả trong tiêu chuẩn này cho phép nhận biết dư lượng từ thời gian lưu của các hợp chất trên các cột sắc ký khí, sử dụng ít nhất hai cột có độ phân cực khác nhau. Các qui trình nêu trong TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996) sắc ký khí mao quản thủy tinh, sắc ký lớp mỏng (TLC), sắc ký khí của sản phẩm oxi hóa và các sản phẩm chuyển hóa khác và các kỹ thuật tương tự đều có giá trị. Các kết quả thu được bằng sắc ký khối phổ cho thấy có bằng chứng cuối cùng về mục đích nhận biết/khẳng định.

CHÚ THÍCH TCVN 8170-4 : 2009 (EN 1528-4 : 1996) về xác định, phép thử khẳng định, hỗn hợp đưa ra hướng dẫn về một số kỹ thuật khuyến cáo để xác định thuốc bảo vệ thực vật và các hợp chất PCB trong các thực phẩm chứa chất béo và về các phép thử khẳng định và đưa ra qui trình làm sạch để loại bỏ các lipid khi xác định các lượng lớn chất béo.

9 Đánh giá

9.1 Tính

Tính nồng độ các dư lượng thuốc bảo vệ thực vật hoặc các chất tương tự PCB trong mẫu thử từ tỷ lệ các sắc đồ của mẫu thử và chất chuẩn hoặc dãy chất chuẩn. Biểu thị nồng độ này trên toàn bộ sản

phẩm hoặc trên chất béo (xem Điều 11) theo yêu cầu của phép phân tích. Độ thu hồi trung bình từ các phép xác định lặp lại cần nằm trong khoảng từ 70 % đến 110 %.

CHÚ THÍCH Khi làm việc gần với giới hạn của phép xác định thì dải này có thể không đạt được.

9.2 Độ chụm

9.2.1 Yêu cầu chung

Độ chụm của phương pháp cần được đánh giá theo ISO 5725 [13]. Theo kinh nghiệm, một số chuẩn cứ chung được nêu trong 9.2.2 đến 9.2.3 là các hướng dẫn cho người phân tích.

9.2.2 Các điều kiện lặp lại

Mỗi phòng thử nghiệm cần kiểm tra định kỳ nếu các kết quả dưới các điều kiện lặp lại chấp nhận được bằng phân tích các mẫu đã được bổ sung một lượng chất chuẩn thích hợp với các nồng độ thích hợp, ví dụ: gần với các giới hạn tối đa hoặc tốt nhất là sử dụng các mẫu có dư lượng đã biết.

Các điều kiện lặp lại được xác định là các điều kiện mà theo đó các kết quả thử nghiệm độc lập thu được khi dùng cùng một phương pháp tiến hành trên cùng một vật liệu thử trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người thực hiện sử dụng cùng thiết bị, tiến hành trong một khoảng thời gian ngắn.

9.2.3 Các điều kiện tái lập

Các điều kiện tái lập được xác định là các điều kiện mà theo đó các kết quả thử nghiệm thu được khi dùng cùng một phương pháp tiến hành trên cùng một vật liệu thử trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do các người khác nhau thực hiện sử dụng các thiết bị khác nhau.

Trong Bảng 3 nêu các ví dụ về chênh lệch có thể chấp nhận được của các kết quả thử nghiệm dưới các điều kiện tái lập.

Bảng 3 – Các ví dụ về chênh lệch có thể chấp nhận được của các kết quả thử nghiệm dưới các điều kiện tái lập

Mức dư lượng, mg/kg	Chênh lệch (\pm), mg/kg
0,01	0,01
0,1	0,05
1,0	0,25

Trong ví dụ này 0,01 mg/kg là gần với giới hạn xác định.

Xác định các giá trị trung gian bằng cách nội suy từ đường log-log.

10 Giới hạn thực của phép xác định

Theo lý thuyết, giới hạn thực của phép xác định trong mẫu liên quan được xác định là nồng độ của thuốc bảo vệ thực vật hoặc dư lượng PCB (miligam trên kilogam) trên sắc đồ của mẫu, với chiều cao hoặc diện tích pic thấp nhất có thể đo được với độ tin cậy có thể chấp nhận được trong kết quả.

Giới hạn thực của phép xác định phụ thuộc vào độ tinh sạch, bản chất của cơ chất và các điều kiện sắc ký khí (cụ thể là loại cột và nhiệt độ cột, khí mang và độ nhạy của detector). Vì các điều kiện này không thể đưa ra một cách chính xác, giới hạn của phép xác định cần được thiết lập cho từng phương pháp và trong từng phòng thử nghiệm. Nhìn chung, giới hạn thực của phép xác định về dư lượng cần phải đạt ít nhất một phần mười giới hạn dư lượng tối đa. Tuy nhiên, nếu giới hạn dư lượng tối đa nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 mg/kg thì giới hạn thực của phép xác định bằng một phần năm của giá trị này là đủ, trừ khi giới hạn dư lượng tối đa được thiết lập gần hoặc ở mức xác định.

11 Biểu thị kết quả

Biểu thị hàm lượng thuốc bảo vệ thực vật hoặc hợp chất PCB theo qui định hiện hành. Không hiệu chỉnh nồng độ trung bình đối với phần trăm thu hồi của dư lượng.

Khi không có dư lượng ở mức bằng hoặc vượt quá giới hạn dư lượng tối đa, thì ghi lại giá trị tìm được từ phép xác định riêng lẻ.

Trong các trường hợp có một hoặc nhiều dư lượng bằng hoặc vượt quá giới hạn dư lượng tối đa, thì tiến hành như sau :

- Nêu rõ nồng độ trung bình và dải nồng độ của từng dư lượng. Nếu có thử trắng thì phải được báo cáo riêng mà không hiệu chỉnh nồng độ trung bình của dư lượng.
- Nêu rõ phần trăm độ thu hồi trung bình và giới hạn thực của phép xác định đối với từng dư lượng có liên quan.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- viện dẫn tiêu chuẩn này và phương pháp thử đã sử dụng;
- kết quả thu được và đơn vị biểu thị kết quả;
- mọi chi tiết đặc biệt quan sát được trong khi thử nghiệm;
- mọi chi tiết thao tác khác với quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy chọn.

Phụ lục A

(Qui định)

Khả năng áp dụng của phương pháp

Bảng A.1 – Khả năng áp dụng của các phương pháp từ A đến H

Hợp chất ²	Phương pháp							
	A	B	C	D	E	F	G	H
	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]
Thuốc bảo vệ thực vật nhóm clo hữu cơ								
aldrin (HHDN)	+	+		+	+	+	+	+
cis-chlordane		+		+	+	+	+	+
trans-chlordane		+		+	+	+	+	+
o, p'-TDE (DDD)	+		+	+		+	4-	+
p, p'-TDE (DDD)	+	+		+	+	+	+	+
o, p'-DDE	+				+		+	+
p, p'-DDE	+	+	+	+	+	+	+	+
o, p'-DDT	+	+		+	+	+	+	+
p, p'-DDT	+	+	+	+	+	+	+	+
dieldrin (HEOD)	+	+	+	+	+	+	+	+
α-endosulfan					+		+	
β-endosulfan							+	
endrin	+	+		+	+	+	+	+
hexachlorobenzene (HCB)		+		+	+	+	+	+
α-HCH	+	+		+	+	+	+	+
β-HCH	+	+		+	+	+	+	+
γ-HCH (lindane)	+	+		+	+	+	+	+
δ-HCH	+	+		+			+	+
heptachlor	+	+		+	+	+	+	+
heptachlor epoxide	+	+		+	+		+	+
methoxychlor	+	+		+	+	+	+	
mirex	+					+	+	+
oxychlordane		+		+	+		+	+
camphechlor (toxaphene)				+	+	+	+	
PCB indicator congeners	+	+	+	+	+		+	+

² Đối với tên hóa chất và cấu trúc, xem ISO 1750 Thuốc bảo vệ thực vật và các hóa chất nông sản khác – Tên thường gọi.

Bảng A.1 – (kết thúc)

Hợp chất	Phương pháp							
	A	B	C	D	E	F	G	H
	[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]
Thuốc bảo vệ thực vật nhóm phospho hữu cơ								
bromophos		+		+			+	+
bromophos-ethyl							+	+
carbophenothion		+					+	+
chlorfenvinphos		+					+	+
chlorpyrifos				+			+	+
chlorpyrifos-methyl								+
crotoxyphos								+
diazinon	(+)	+					(+)	+
dichlorvos								+
ethion	(+)			+			+	+
famphur								+
fenitrothion							+	+
fenchloiphos (ronnel)	(+)	+		+			+	
fenthion								+
iodofenphos				+			+	+
malathion	(+)	+					+	+
phosmet								+
pirimiphos-methyl							+	+
parathion	(+)	+					+	
paraihion-methyl	(+)						+	
phenkapton				+				
tetrachlorvinphos							+	

Chú dẫn: + có khả năng áp dụng, (+) được đánh giá đối với một số trường hợp đặc biệt, xem [1].

²⁾ Đối với tên hóa chất và cấu trúc, xem ISO 1750 Thuốc bảo vệ thực vật và các hóa chất nông sản khác – Tên thương gọi.

Phụ lục B

(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
Dimetylformamid	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 clorua	Được nung ở 500 °C ít nhất 4 h và làm nguội trong tủ hút ẩm
Natri sulfat	Được nung ở 500 °C ít nhất 4 h và làm nguội trong tủ hút ẩm

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, Methods 10.
 - [3] Cunniff, R (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 1,6, pp. 297-308, Methods 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, VoLI, 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. 76-78 and pp. 383-400, Clean-up Method 6 and Method S 19.
 - [8] UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food Analysis of pesticide residues in products of animal origin, Method FSCLPesM, (23.4.91).
 - [9] Guidelines on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis; Codex alimentarius commissioa In: Codex Alimentarius; Volume Two Pesticide Residues in Food - Rome; Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); World Health Organization (WHO) 1993 Part 42, pp. 405-416.
 - [10] Horwitz, W, Kamps, L.R., and Boyer, K.W.: Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents, J. Assoc Off. Anal. Chem. 63, pp. 1344-1351, (1980).
 - [11] Burke, J.A., Mills, RA., and Bostwkk, D.C.: J. Assoc Off Agric Chem. 49, pp. 999-1003, (1966).
 - [12] Gunther, EA., et al: Anal. Chem. 23, pp. 1835-1842, (1951).
 - [13] ISO 5725 Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests
 - [14] Council Directive 94/43 EC of 27 July 1994 establishing annex VI of Directive 91/414 EEC concerning the placing of plant protection products on the market J. Europ. Com.
-