

TCVN 11368:2016

Xuất bản lần 1

**THỦY SẢN VÀ SẢN PHẨM THỦY SẢN -
XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG TRIFLURALIN -
PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ GHÉP KHỐI PHỔ (GC-MS)**

*Fish and fishery products - Determination of trifluralin residue -
Gas chromatography mass spectrometric method (GC-MS)*

HÀ NỘI - 2016

Lời nói đầu

TCVN 11368:2016 do Trung tâm Chất lượng nông lâm thủy sản vùng 1 - Cục Quản lý Chất lượng Nông lâm sản và thủy sản biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thủy sản và sản phẩm thủy sản - Xác định dư lượng trifluralin - Phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS)

Fish and fishery products - Determination of trifluralin residue - Gas Chromatography Mass Spectrometric method (GC-MS)

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

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định dư lượng trifluralin trong thủy sản và sản phẩm thủy sản bằng sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS).

Giới hạn phát hiện của phương pháp là 1,0 µg/kg.

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 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*.

3 Nguyên tắc

Dư lượng trifluralin trong mẫu được chiết bằng axetonitril đã axit hóa. Dịch chiết được làm sạch bằng phương pháp QuEChERS và đưa vào phân tích bằng kỹ thuật sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS để xác định và định lượng trifluralin có trong mẫu. Phương pháp có sử dụng nội chuẩn trifluralin D14.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, nước loại 1 của TCVN 4851 (ISO 3696), trừ khi có quy định khác.

4.1 Chuẩn trifluralin ($C_{13}H_{18}F_3N_3O_4$), độ tinh khiết lớn hơn hoặc bằng 95 %.

4.2 Nội chuẩn trifluralin D14, 100 mg/l.

4.3 Magiê sulfat khan ($MgSO_4$).

4.4 Natri axetat (CH_3COONa) khan.

4.5 Chất hấp phụ amin (PSA - Primary secondary amin), có cỡ hạt 40 μm .

4.6 Chất hấp phụ C18, cỡ hạt 40 μm .

4.7 Axetonitril (CH_3CN), tinh khiết phân tích.

4.8 Iso-octan ($(CH_3)_3CCH_2CH(CH_3)_2$), loại dùng cho phân tích sắc ký khí.

4.9 Axít axetic (CH_3COOH), glacial ($\geq 99,85$ %).

4.10 Dung dịch axít axetic 0,1 % trong axetonitril

Hút 0,25 ml axít axetic (4.9) vào bình định mức 250 ml (5.14), định mức đến vạch bằng axetonitril (4.7). Trộn đều, bảo quản ở nhiệt độ phòng, dung dịch bền trong một tuần.

4.11 Hỗn hợp A

Cân ($2,50 \pm 0,05$) g magiê sulphat khan (4.3) và ($0,4 \pm 0,05$) g natri axetat khan (4.4) cho vào ống ly tâm nhựa 50 ml (5.11).

4.12 Hỗn hợp B

Cân ($0,25 \pm 0,01$) g chất hấp phụ amin (4.5), ($0,25 \pm 0,01$) g bột C18 (4.6) và ($0,25 \pm 0,01$) g Magiê sulfat khan (4.3) vào ống ly tâm nhựa 15 ml (5.11).

4.13 Dung dịch chuẩn trifluralin gốc 1000 mg/l

Cân 10 mg chuẩn trifluralin (4.1), cho vào bình định mức 10 ml (5.14), hòa tan bằng Iso-octan (4.8), lắc đều đến khi tan hoàn toàn và định mức đến vạch.

Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn âm 18 °C, dung dịch bền trong 1 năm.

CHÚ THÍCH:

Tùy thuộc vào lượng cân, độ tinh khiết của chuẩn trifluralin, tính toán lại nồng độ chuẩn thực tế.

4.14 Dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 100 mg/l

Hút 1 ml dung dịch chuẩn gốc trifluralin 1000 mg/l (4.13) cho vào bình định mức 10 ml (5.14), định mức tới vạch bằng iso-octan (4.8). Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn âm 18 °C, dung dịch bền trong 1 năm.

4.15 Dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 10 mg/l

Hút 1 ml dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 100 mg/l (4.14) cho vào bình định mức 10 ml (5.14), định mức tới vạch bằng iso-octan (4.8). Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn âm 18 °C, dung dịch bền trong 6 tháng.

4.16 Dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 1 mg/l

Hút 1 ml dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 10 mg/l (4.15) cho vào bình định mức 10 ml (5.14), định mức tới vạch bằng iso-octan (4.8). Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn âm 18 °C, dung dịch bền trong 3 tháng.

4.17 Dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 100 µg/l

Hút 1 ml dung dịch chuẩn trifluralin trung gian 1 mg/l (4.16) cho vào bình định mức 10 ml (5.14), định mức tới vạch bằng iso-octan (4.8). Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn âm 18 °C, dung dịch bền trong 1 tháng.

4.18 Dung dịch nội chuẩn Trifluralin D14 trung gian 10 mg/l

Hút 1ml dung dịch nội chuẩn trifluralin D14 100 mg/l (4.2) cho vào bình định mức 10 ml (5.14), định mức đến vạch bằng iso-octan (4.8). Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng âm 18 °C, dung dịch bền trong 6 tháng.

4.19 Dung dịch nội chuẩn Trifluralin D14 trung gian 1 mg/l

Hút 1 ml dung dịch nội chuẩn trifluralin D14 trung gian 10 mg/l (4.18) cho vào bình định mức 10 ml (5.14), định mức đến vạch bằng iso-octan (4.8). Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng âm 18 °C, dung dịch bền trong 3 tháng.

4.20 Dung dịch chuẩn để dựng đường chuẩn: Pha chuẩn trifluralin ở các nồng độ 0,0; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 30,0 µg/l và nội chuẩn trifluralin D14 ở nồng độ 20 µg/l, cụ thể như sau:

Lấy 6 bình định mức 10 ml (5.14) ký hiệu S1, S2, S3, S4, S5, S6, thêm vào mỗi bình 200 µl dung dịch nội chuẩn trifluralin D14 nồng độ 1 mg/l (4.19).

TCVN 11368:2016

Thêm lần lượt 50; 100 µl dung dịch chuẩn trifluralin 100 µg/l (4.17) vào các bình S2, S3.

Thêm 50; 100; 300 µl dung dịch chuẩn trifluralin 1 mg/l (4.16) vào các bình S4, S5, S6.

Định mức tới vạch bằng iso octan (4.8).

Bảo quản trong chai thủy tinh tối màu 15 ml (5.17) ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng âm 18 °C, dung dịch bền trong 1 tháng.

4.21 Khí Heli, có độ tinh khiết lớn hơn hoặc bằng 99,999 %.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Hệ thống máy sắc ký khí – đầu dò khối phổ (MS) bao gồm:

- Hệ thống máy tính và phần mềm;
- Đầu dò khối phổ;
- Cột sắc ký khí, pha tĩnh chứa 5 % diphenyl 95 % dimethyl polysiloxane; chiều dài cột 30 m, đường kính 0,25 mm, độ dày pha tĩnh 0,25 µm.

5.2 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,1 mg.

5.3 Cân kỹ thuật, có độ chính xác đến 0,01 g.

5.4 Tủ lạnh đông, hoạt động liên tục ở nhiệt độ thấp hơn hoặc bằng âm 20 °C.

5.5 Máy ly tâm, tốc độ tối thiểu 4000 r/min, ly tâm được ống 15 ml và 50 ml.

5.6 Bể siêu âm.

5.7 Hệ thống làm khô dung môi, hút chân không.

5.8 Máy lắc mẫu, tốc độ tối thiểu 3000 r/min.

5.9 Pipet pasteur, 150 mm, 3ml.

5.10 Ống ly tâm thủy tinh, dung tích 10 ml.

5.11 Ống ly tâm nhựa, dung tích 15; 50 ml có nắp.

5.12 Lọ đựng mẫu, dung tích 1,5 ml có nắp và đệm PTFE.

5.13 Máy xay mẫu.

5.14 Bình định mức, dung tích 10; 250; 1000 ml.

5.15 Đầu tip, dung tích 100; 200; 1000; 5000 μ l.

5.16 Micropipet, dung tích 100; 200; 1000; 5000 μ l.

5.17 Chai thủy tinh tối màu, có nắp, dung tích 15; 1000 ml.

6 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không được quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 5139 : 2008 (CAC/GL 33-1999) *Phương pháp khuyến cáo lấy mẫu để xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật phù hợp với các giới hạn dư lượng tối đa (MRL)*.

Mẫu được bảo quản trong tủ đông ở nhiệt độ nhỏ hơn âm 20 °C cho đến khi xử lý.

7 Cách tiến hành

7.1 Yêu cầu chung

Toàn bộ quy trình phân tích cần được thực hiện trong ngày.

7.2 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu trước khi đồng nhất phải được rã đông : Chuyển mẫu từ tủ đông để rã đông tự nhiên ở nhiệt độ phòng trong khoảng 30 min hoặc giữ nguyên bao gói kín xả dưới vòi nước trong 10 min.

Lấy phần ăn được của thủy sản và sản phẩm thủy sản cắt thành từng miếng nhỏ, đồng hóa mẫu bằng máy xay mẫu (5.13). Chuyển mẫu đã đồng nhất sang dụng cụ đựng mẫu, đậy nắp kín và lưu trữ ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng âm 18 °C. Khi thực hiện phân tích, phải đưa mẫu về nhiệt độ phòng.

Cân m gam ($5,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$) mẫu đã đồng nhất vào ống ly tâm nhựa 50 ml (5.11).

7.2.1 Chuẩn bị mẫu trắng

Cân ($5,0 \pm 0,1$) g mẫu trắng đã đồng nhất vào ống ly tâm nhựa 50 ml (5.11). Mẫu trắng được tiến hành như mẫu thử. Thực hiện tối thiểu một mẫu trắng trong một lô mẫu.

7.2.2 Chuẩn bị mẫu kiểm soát ở nồng độ 3 $\mu\text{g/kg}$

Cân ($5,0 \pm 0,1$) g mẫu trắng đã đồng nhất vào ống ly tâm nhựa 50 ml (5.11), thêm 15 μ l dung dịch chuẩn trifluralin 1 mg/l (4.16), trộn đều bằng máy lắc mẫu (5.8) trong 2 min. Thực hiện tối thiểu một mẫu kiểm soát trong một lô mẫu.

Độ thu hồi của mẫu kiểm soát tham khảo phụ lục A

7.2.3 Bổ sung nội chuẩn Trifluralin D14

Thêm 50 µl dung dịch chuẩn trifluraline D14 1 mg/l (4.19) vào tất cả các mẫu (bao gồm mẫu trắng, mẫu kiểm soát và các mẫu thử), trộn đều, để yên 15 min trước khi tiến hành phân tích.

7.3 Chiết tách

7.3.1 Chiết mẫu

Cho 5 ml (V_0) dung dịch axetonitril đã axit hóa (4.10) vào mỗi ống, đậy nắp;

Lắc 2 min trên máy lắc mẫu (5.8), siêu âm bằng bể siêu âm (5.6) trong 10 min;

Cho từ từ hỗn hợp A (4.11) vào mỗi ống, trộn đều khoảng 2 min. Ly tâm 4000 r/min, trong 10 min;

7.3.2 Xử lý dịch chiết

Hút 4,0 ml lớp trên cho vào hỗn hợp B (4.12), trộn đều trong 1 min. Ly tâm ở tốc độ 4000 r/min trong 8 min;

Hút 2,0 ml (V_1) dung dịch lớp trên cho vào ống ly tâm thủy tinh (5.10);

Loại bỏ dung môi bằng hệ thống làm khô dung môi (5.7) ở nhiệt độ không quá 40 °C. Hoà tan phần cặn bằng 1 ml (V_2) iso-octan (4.8). Lắc mẫu ở tốc độ 2500 r/min bằng máy lắc mẫu (5.8) trong 2 min; Ly tâm 4000 r/min, trong 10 min.

Hút dung dịch sau ly tâm vào lọ đựng mẫu 1,5 ml (5.12) bằng pipet pasteur (5.9), đậy kín nắp đem đi phân tích trên GC-MS.

7.4 Điều kiện phân tích trên GC-MS

7.4.1 Yêu cầu chung

Đảm bảo các pic sắc ký có dạng phân bố Gauss, thời gian lưu (t_R) của chuẩn 0,5 µg/l phải bằng hoặc lớn hơn hai lần thể tích chết của cột. Tín hiệu của mẫu chuẩn chuẩn 0 µg/l (S_1) phải nhỏ hơn 30 % tín hiệu của mẫu chuẩn tại giá trị giới hạn phát hiện (chuẩn 1,0 µg/l) của phương pháp.

7.4.2 Điều kiện phân tích trên GC-MS (tham khảo phụ lục B)

7.4.3 Trình tự bơm mẫu (tham khảo)

Trình tự bơm mẫu theo thứ tự như sau: dung môi iso octan; các dung dịch chuẩn; mẫu trắng; mẫu kiểm soát; mẫu thử. Sau 10 mẫu phải bơm lại một điểm chuẩn hoặc mẫu kiểm soát (7.2.2).

7.5 Xây dựng đường chuẩn

Đường chuẩn được xây dựng dưới dạng $y = ax + b$ dựa trên tỉ số S_S/S_{IS} (y) theo C_S/C_{IS} (x) với:

S_s, C_s là diện tích pic và nồng độ của chất chuẩn tương ứng;

S_{is}, C_{is} là diện tích pic và nồng độ chất nội chuẩn trifluralin D14 trong mẫu tương ứng.

Giá trị hệ số chặn nên gần giá trị 0 và hệ số tương quan hồi quy (r^2) phải lớn hơn hoặc bằng 0,99.

8 Tính kết quả

8.1 Hàm lượng Trifluralin trong mẫu thử

Hàm lượng trifluralin, X , biểu thị bằng microgam trên kilogam ($\mu\text{g/kg}$), được tính theo công thức:

$$X = X_0 \times F$$

trong đó:

X_0 là nồng độ trifluralin trong mẫu thử được xác định theo đường chuẩn (8.1), tính bằng microgam trên mililit ($\mu\text{g/kg}$);

F là hệ số pha loãng mẫu.

Chú thích: Pha loãng mẫu bằng dung dịch trifluralin D14 nồng độ 20 $\mu\text{g/l}$ trong iso-octan.

8.2 Biểu diễn kết quả

Kết quả thử nghiệm được báo cáo với một chữ số thập phân, đơn vị tính là $\mu\text{g/kg}$.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- Mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- Kết quả thử nghiệm;
- Phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- Phương pháp thử đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- Tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;

Phụ lục A

(Tham khảo)

Kiểm soát chất lượng kết quả thử nghiệm

1. Hệ số hồi quy tuyến tính (r^2) của đường chuẩn:

Phải lớn hơn hoặc bằng 0,99.

2. Độ thu hồi của mẫu kiểm soát:

Độ thu hồi của mẫu kiểm soát phải nằm trong khoảng quy định trong bảng 1

Bảng 1 – Quy định về độ thu hồi

Nồng độ	Độ thu hồi (%)
0,1%	95 – 105
100ppm	90 – 107
10ppm	80 -110
1ppm	80 -110
100ppb	80 -110
10ppb	60 – 115
1ppb	40 - 120

3. Độ lệch của tỉ lệ ion:

Độ lệch của tỷ lệ ion phải nằm trong giới hạn của bảng 2:

Bảng 2 – Các yêu cầu về độ lệch của tỉ lệ ion

Tỉ lệ ion	Độ lệch cho phép khi so với giá trị trung bình của đường chuẩn (kỹ thuật GC-CI-MS)	Độ lệch cho phép khi so với giá trị trung bình của đường chuẩn (kỹ thuật GC-EI-MS)
Từ 0,50 đến 1,00	± 30 %	± 10 %
Từ 0,20 đến 0,50	± 30 %	± 15 %
Từ 0,10 đến 0,20	± 30 %	± 20 %
Nhỏ hơn 0,10	± 30 %	± 50 %

PHỤ LỤC B

(Tham khảo)

Điều kiện phân tích trên GC-MS

Nhiệt độ buồng bơm mẫu:	250 °C;
Thể tích bơm mẫu:	2 µl, không chia dòng;
Nhiệt độ cột tách:	nhiệt độ ban đầu 80 °C giữ trong 1 min, tăng 30 °C/min đến nhiệt độ 117 °C giữ trong 1 min, tăng 2 °C/min đến 182 °C, tăng 40 °C/min đến nhiệt độ cuối 280 °C và giữ trong 4 min;
Tốc độ khí mang (He):	1,2 ml/min
Nhiệt độ đường truyền	280 °C;
Nhiệt độ nguồn ion	230 °C;
Phương thức quét	SIM;
Thời gian dừng	100 ms;
Các thông số SIM	306*, 264, 290, 335, 315*, 267, 299, 349

Trong đó: 306 là mảnh định lượng của trifluralin; 315 là mảnh định lượng của trifluralin D14

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Quy trình phân tích chuẩn NAF 032/10 “Xác định dư lượng Trifluralin bằng GC-MS” của Cục Quản lý Chất lượng Nông lâm sản và Thủy sản.
- [2] AOAC Official Method 2007.01 Pesticide Residue in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate; Gas Chromatography/Mass Spectrometry and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry First Action 2007.
-