

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 11491:2016

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM CÓ NGUỒN GỐC THỰC VẬT -
XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG NHÓM PYRETHROID TỔNG HỢP -
PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ**

*Food analysis - Determination of synthetic pyrethroids residues -
Gas chromatographic method*

HÀ NỘI - 2016

Lời nói đầu

TCVN 11491:2016 được xây dựng trên cơ sở tham khảo AOAC 998.01 *Synthetic pyrethroids in agricultural products. Multiresidue gas chromatographic method*;

TCVN 11491:2016 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 thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm có nguồn gốc thực vật - Xác định dư lượng nhóm pyrethroid tổng hợp - Phương pháp sắc kí khí

Foods of plant origin - Determination of synthetic pyrethroids residues - Gas chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp sắc kí khí để xác định dư lượng của 8 loại thuốc bảo vệ thực vật nhóm pyrethroid tổng hợp (bifenthrin, fenpropathrin, cyhalothrin, permethrin, cypermethrin, fenvalerate, fluvalinate, deltamethrin) trong thực phẩm có nguồn gốc thực vật.

Phương pháp này đã được thử nghiệm liên phòng trên các mẫu bột mì, cam và cà chua. Kết quả được nêu trong Phụ lục B.

2 Nguyên tắc

Rau, quả được chiết bằng axeton, ngũ cốc được chiết bằng nước-axetonitril. Các chất phân tích được tách vào hexan, làm bay hơi đến khô và được hòa tan lại trong hexan. Dịch chiết được tách một phần với axetonitril và được làm sạch trên cột Florisil® đã khử hoạt tính bằng etyl ete 6 % trong hexan. Nồng độ chất phân tích được xác định bằng sắc ký khí có detector bắt giữ điện tử (GC-ECD) và so sánh với chất chuẩn hiệu chuẩn, nồng độ thích hợp chất chuẩn được xác định bằng chiết thử nghiệm chất đã được sàng lọc trước khi phân tích.

3 Thuốc thử và vật liệu thử

Trong suốt quá trình phân tích, chỉ sử dụng các loại thuốc thử đạt chất lượng phân tích và chỉ sử dụng nước ít nhất là loại 3 quy định trong TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987) *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*, trừ khi có quy định khác.

3.1 Dung môi.

3.1.1 Axeton, $(CH_3)_2CO$.

3.1.2 Hexan, $CH_3(CH_2)_4CH_3$.

3.1.3 Axetonitril.

3.1.4 Etyl ete.

3.2 Natri sulfat (Na_2SO_4), khan, được nung ở 650 °C trong 4 h và để nguội trong bình hút ẩm.

3.3 Dung môi rửa giải, etyl ete 6 % trong hexan.

Trộn 60 ml etyl ete (3.1.4) với 940 ml hexan (3.1.2).

3.4 Các dung dịch chuẩn thuốc bảo vệ thực vật, độ tinh khiết tối thiểu 90 %.

3.4.1 Dung dịch chuẩn gốc đơn lẻ trong hexan, nồng độ 10,0 mg/100 ml (delta methrin, cypermethrin, 250 µg/ml) và 50 µg/ml (fenprothrin, permethrin, fenvalerate) và fluvalinate 500 µg/ml.

3.4.2 Dung dịch chuẩn hỗn hợp (để xác định mô hình rửa giải Florisil).

Dùng pipet lấy 5 ml các dung dịch chuẩn gốc bifenthrin, λ-cyhalothrin, 10 ml các dung dịch chuẩn gốc deltamethrin, cypermethrin, fenprothrin, permethrin, fenvalerate và fluvalinate cho vào bình định mức một vạch 100 ml và thêm hexan đến vạch.

3.5 Florisil đã khử hoạt tính, cỡ hạt 60 mesh đến 100 mesh hoặc loại tương đương.

Hoạt hóa Florisil 4 h ở 650 °C trong lò nung. Chuyển vào tủ sấy ở 130 °C và để yên trong 5 h. Bảo quản trong chai thủy tinh có nắp đậy hoặc bình hút ẩm kín khí rồi để nguội qua đêm. Khử hoạt tính Florisil bằng cách thêm cẩn thận 5 % nước cất (khối lượng). Dùng máy lắc cơ học (4.4) lắc trong 1 h và để yên qua đêm. Bảo quản trong vật chứa kín ở nhiệt độ phòng. Florisil đã khử hoạt tính có thể bền đến 7 ngày.

3.6 Axetonitril bão hòa với hexan.

Cho 300 ml axetonitril (3.1.3) và 100 ml hexan (3.1.2) vào phễu chiết 500 ml (4.6). Lắc mạnh, thỉnh thoảng đảo chiều trong 2 min. Để cho tách lớp. Gạn lớp axetonitril vào chai bảo quản.

3.7 Natri clorua ($NaCl$), 4,0 % (khối lượng/thể tích).

3.8 Bông thủy tinh.

4 Thiết bị, dụng cụ

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

- 4.1 **Máy sắc ký khí**, có bộ bơm mẫu tự động và detector bắt giữ điện tử (ECD).
- 4.2 **Cột GC**, dài 30 m đường kính trong 0,25 mm, độ dày màng 0,10 μm (DB-5, phenylmethylpolysiloxan 5 % hoặc loại tương đương).
- 4.3 **Máy đồng hóa**, tốc độ từ 800 r/min đến 24 000 r/min.
- 4.4 **Máy lắc cơ học**, tốc độ 50 đến 300 lần dao động/min.
- 4.5 **Máy cô quay**.
- 4.6 **Phễu chiết**, 125 ml và 500 ml.
- 4.7 **Bình cầu đáy tròn**, 250 ml.
- 4.8 **Phễu lọc Buchner**, có giấy lọc.
- 4.9 **Bình định mức**, 50 ml và 100 ml.

5 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Xem tiêu chuẩn cụ thể có liên quan đến sản phẩm. Nếu chưa có tiêu chuẩn cụ thể liên quan đến sản phẩm thì các bên có liên quan nên thoả thuận với nhau về vấn đề này.

6 Cách tiến hành

6.1 Các điều kiện vận hành máy sắc ký khí

Các điều kiện vận hành sau đây cho thấy thích hợp:

- Nhiệt độ cổng bơm: 280 °C;
- Nhiệt độ ECD: 300 °C;
- Tốc độ khí mang heli: 29 cm/s;
- Tốc độ khí tạo nitơ: 30 ml/min;

– Chương trình nhiệt độ cột: 50 °C trong 1 min, tăng lên 205 °C với tốc độ 30 °C/min, tăng lên 240 °C với tốc độ 1 °C/min, giữ 2 min ở 240 °C;

– Chế độ bơm không chia dòng:

+ Mở bộ chia trong vòng 0,8 min sau khi bơm

+ tốc độ tăng lên: 22 ml/min

– tốc độ dòng làm sạch: 9 ml/min

LƯU Ý Bông thủy tinh đã silan hóa không được sử dụng trong ống dẫn đầu vào sau detector của GC. Chênh lệch về độ đáp ứng detector giữa hai lần bơm liên tiếp của cùng một dung dịch chuẩn không được quá 6 %. Phân giải pic, tham khảo Hình A.1 của Phụ lục A.

6.2 Mô hình rửa giải Florisil

Đặt nút bông thủy tinh nhỏ vào đáy cột thủy tinh dài 400 mm, đường kính trong 22 mm. Thêm một lớp natri sulfat khan (3.2) dày 1 cm. Thêm khoảng 50 ml hexan (3.1.2) lên cột, rồi thêm 10 g Florisil đã khử hoạt tính (3.5) và mở vòi ở thành cột. Phủ lên trên một lớp natri sulfat khan (3.2) dày 1 cm. Rửa cột sơ bộ với khoảng 50 ml hexan (3.1.2). Không để cột khô cho đến khi rửa giải hết. Cho 1,0 ml dung dịch chuẩn hỗn hợp (3.4.2) lên cột Florisil và rửa giải các pyrethroid tổng hợp với dung môi rửa giải 6 % (3.3) như trong 6.5. Bơm 1 µl dịch lỏng lên cột GC (4.2) và xác định độ thu hồi của từng loại thuốc bảo vệ thực vật. Xem Hình A.2, Phụ lục A về thứ tự rửa giải các chất phân tích. Độ thu hồi của fluvalinate dự kiến khoảng 95 % phụ thuộc vào hoạt độ của Florisil và thể tích của dung môi rửa giải 6 % (3.3), thể tích này dao động từ 130 ml đến 200 ml. Chính thể tích để độ thu hồi của fluvalinate đạt khoảng 95 %.

6.3 Chiết

6.3.1 Đối với mẫu có độ ẩm cao (≥ 75 %)

Cân 50,0 g mẫu đã được nghiền nhỏ (chính xác đến 0,1 g) cho vào bình đồng hóa (4.3), thêm 120 ml axeton (3.1.1) và đồng hóa trong 3 min ở tốc độ 18 000 r/min.

Lọc hút qua phễu lọc Buchner (4.8) vào bình hút 500 ml. Tráng bộ đồng hóa hai lần, mỗi lần 25 ml axeton (3.1.1) và dùng dịch tráng này để rửa phần còn lại trong phễu lọc Buchner. Chuyển dịch lọc vào phễu chiết 500 ml (4.6). Rửa bình hút hai lần, mỗi lần 10 ml axeton (3.1.1), cho dịch rửa vào phễu chiết.

6.3.2 Đối với mẫu có độ ẩm thấp (ví dụ ngũ cốc)

Cân 20,0 g mẫu (chính xác đến 0,1 g) cho vào bình đồng hóa (4.3), thêm 150 ml hỗn hợp axetonitril-nước (2:1 phần thể tích) và đồng hóa ở 18.000 r/min trong 5 min. Tiến hành tiếp như trong 6.3.1, sử dụng axetonitril-nước (2:1 phần thể tích) thay cho axeton.

6.4 Thêm 60 ml hexan (3.1.2) vào phễu chiết chứa dịch chiết. Lắc mạnh trong 5 min, thỉnh thoảng đảo chiều phễu. Thêm 200 ml natri clorua 4,0 % (3.7) và trộn mạnh trong khoảng 30 s. Để cho tách lớp và loại bỏ lớp nước. Cho lớp hexan qua phễu thủy tinh có chứa bông thủy tinh (3.8) và khoảng 15 g natri sulfat khan (3.2), thu lấy dịch chiết cho vào bình cầu đáy tròn 250 ml (4.7). Tráng phễu chiết hai lần, mỗi lần dùng 20 ml hexan (3.1.2) và cho dịch tráng đi qua bông thủy tinh (3.8) vào bình cầu đáy tròn.

6.5 Làm bay hơi lượng chứa trong bình cầu đáy tròn đến khô trên máy cô quay (4.5) ở 40 °C. Hòa tan lại phần còn lại trong 10 ml hexan và chuyển vào phễu chiết 125 ml (4.6). Tráng bình cầu đáy tròn hai lần, mỗi lần dùng 5 ml hexan (3.1.2) và cho dịch tráng vào phễu chiết. Thêm 30 ml axetonitril bão hòa hexan (3.6) và lắc mạnh trong 5 min, thỉnh thoảng đảo chiều phễu chiết. Để tách lớp và gạn pha axetonitril vào bình cầu đáy tròn dung tích 250 ml (4.7). Thêm tiếp 30 ml axetonitril bão hòa hexan (3.6) vào phễu chiết và lắc mạnh, thỉnh thoảng đảo chiều phễu, trong 5 min. Để cho tách pha và gạn lớp axetonitril vào cùng bình cầu đáy tròn 250 ml. Chiết tiếp với 30 ml axetonitril và thu lấy axetonitril.

CHÚ THÍCH 1 Đo chính xác thể tích axetonitril và hexan sẽ cho kết quả tối ưu.

Làm bay hơi dịch chiết axetonitril đến khô trên máy cô quay (4.5) ở 60 °C. Hòa tan phần còn lại trong 5 ml hexan (3.1.2).

CHÚ THÍCH 2 Đảm bảo axetonitril được bay hơi hoàn toàn đến khô.

6.6 Chuyển dịch chiết lên cột và để ở mức sao cho chỉ vừa trên cột nhồi Florisil. Tráng bình cầu đáy tròn hai lần, mỗi lần 10 ml hexan (3.1.2), cho từng dịch tráng lên cột và để cho chảy qua cột. Rửa giải dư lượng pyrethroid với cùng một thể tích dung môi rửa giải 6 % (3.3), đã được dùng trong quá trình chuẩn hóa dịch rửa giải Florisil (6.2), thu lấy dịch rửa giải ở tốc độ 3 ml/min vào bình cầu đáy tròn 250 ml. Làm bay hơi dịch rửa giải đến ít hơn 50 ml bằng bộ cô quay (4.14) ở 40 °C và chuyển vào bình định mức 50 ml (4.9). Thêm hexan (3.1.2) đến vạch sao cho nồng độ cuối cùng của mẫu là 1,0 g/ml đối với rau quả hoặc 0,4 g/ml đối với ngũ cốc.

6.7 Nhận biết tạm thời các pic của dư lượng bằng cách so sánh thời gian lưu của dịch chiết với thời gian lưu của các pic tương ứng trong dung dịch chuẩn. Tùy theo nồng độ xấp xỉ của các pyrethroid trong dịch chiết, chọn dung dịch chuẩn có chiều cao pic tương tự với chiều cao của dịch chiết. Bơm dung dịch chuẩn có chiều cao pic bằng ± 25 % chiều cao pic của chất phân tích. Pha loãng và phân tích lại nếu nồng độ chất phân tích vượt quá 500 µg/ml.

Đối với các pyrethroid chứa nhiều đồng phân thì thêm các đa thành phần ở các nồng độ khác nhau vào cả dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

7 Tính kết quả

Hàm lượng của từng pyrethrin trong dịch chiết thử nghiệm, X, biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg) được tính theo công thức sau đây:

$$X = C_{Std} \times \left(\frac{H_{EX}}{H_{Std}} \right) \times \left(\frac{V_{Std}}{V_{Ex}} \right) \times \left(\frac{D}{W} \right)$$

Trong đó:

C_{Std} là nồng độ chất chuẩn, tính bằng microgam trên mililit ($\mu\text{g/ml}$);

H_{Ex} là chiều cao pic của dịch chiết;

H_{Std} là chiều cao pic của chất chuẩn;

V_{Std} là thể tích chất chuẩn được bơm tính bằng microlit (μl);

V_{Ex} là thể tích dịch chiết được bơm tính bằng microlit (μl);

D là thể tích dịch pha loãng, tính bằng mililit (ml);

W là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm ít nhất các thông tin sau đây:

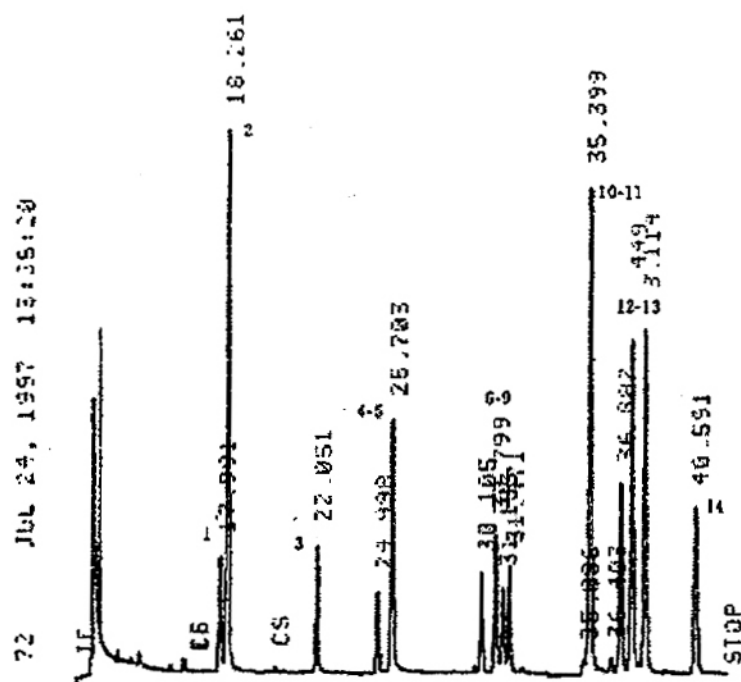
- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc những điều được coi là tự chọn, và bất kỳ chi tiết nào có ảnh hưởng tới kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các ví dụ

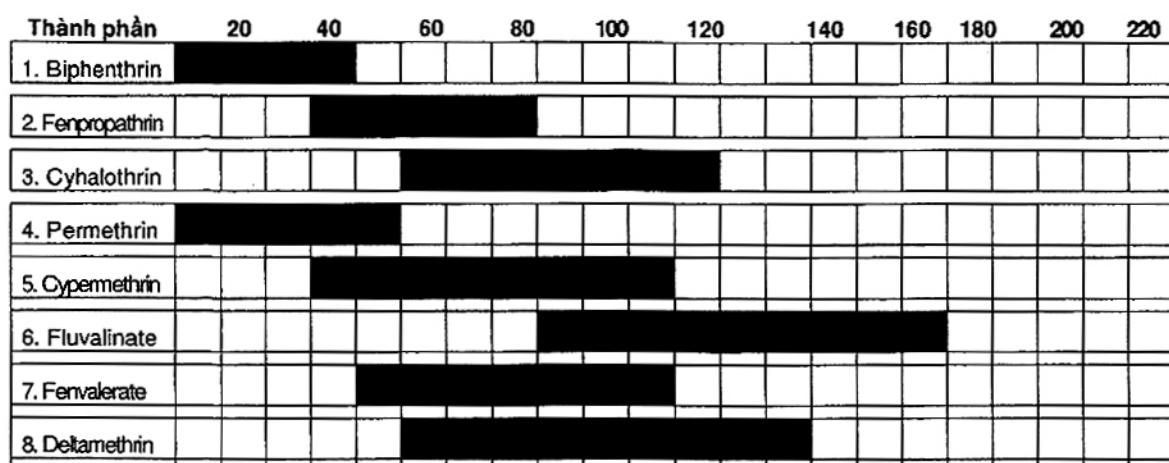
A.1 Ví dụ về sắc ký đồ điện hình



Hình A.1 – Sắc ký đồ điện hình của dung dịch chuẩn hỗn hợp của 8 loại thuốc bảo vệ thực vật nhóm pyrethroid tổng hợp (số pic từ trái sang phải): (1) bifenthrin (0,11 ng); (2) fenpropathrin (1,00 ng); (3) λ -cyhalothrin (0,11 ng); (4 đến 5) permethrin (1,00 ng); (6 đến 9) cypermethrin (0,50 ng); (10 đến 11) fenvalerate (1,00 ng); (12 đến 13) fluvalinate (1,00 ng); và (14) deltamethrin (0,20 ng)

A.2 Ví dụ về mô hình rửa giải thuốc bảo vệ thực vật

Thể tích tính bằng mililit (ml)



Hình A.2 – Mô hình rửa giải thuốc bảo vệ thực vật từ cột Florisil đã khử hoạt tính có 5 % nước bằng dung môi rửa giải 6 %

Phụ lục B

(Tham khảo)

Kết quả nghiên cứu

Bảng B.1 – Các kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm

Tên thuốc bảo vệ thực vật	Mẫu thêm chuẩn, mg/kg	Độ thu hồi %	Độ lệch chuẩn lặp lại S_r	Độ lệch chuẩn tái lập S_R	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại (ASD_r) %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập (ASD_R) %	Giới hạn lặp lại r	Giới hạn tái lập R
Bột mì								
Bifenthrin	0,105	91,8	0,0074	0,0104	7,60	10,71	0,0209	0,0294
Fenprothrin	0,210	95,2	0,0126	0,0129	6,34	6,46	0,0356	0,0366
Cyhalothrin	0,105	96,9	0,0068	0,0084	6,66	8,19	0,0194	0,0238
Permethrin	1,909	95,0	0,1364	0,2536	7,46	13,89	0,3856	0,7174
Cypermethrin	0,382	97,6	0,0340	0,0537	9,02	14,21	0,0962	0,1518
Fenvalerate	1,909	100,2	0,1692	0,2134	8,82	11,08	0,4758	0,6034
Fluvalinate	0,954	92,9	0,0814	0,1556	9,18	17,52	0,2300	0,4402
Deltamethrin	0,954	99,4	0,1029	0,1692	10,84	17,74	0,2911	0,4784
Cam								
Bifenthrin	0,105	93,3	0,0051	0,0077	5,19	7,88	0,0144	0,0218
Fenprothrin	0,210	99,4	0,0122	0,0142	5,82	6,78	0,0346	0,0402
Cyhalothrin	0,105	96,1	0,0070	0,0103	6,84	9,66	0,0196	0,0278
Permethrin	0,954	97,7	0,0537	0,0558	5,72	5,94	0,1520	0,1578
Cypermethrin	1,909	97,5	0,1138	0,2212	6,11	11,86	0,3221	0,6256
Fenvalerate	1,909	100,6	0,1201	0,2052	6,23	10,70	0,3396	0,5806
Fluvalinate	1,909	88,1	0,1451	0,2988	8,67	17,78	0,4104	0,8451
Deltamethrin	0,095	99,9	0,0111	0,0172	11,72	18,13	0,0314	0,0486
Cà chua								
Bifenthrin	0,105	96,0	0,0032	0,0056	3,20	5,66	0,0090	0,0160
Fenprothrin	0,954	96,0	0,0328	0,0554	3,58	6,04	0,0930	0,1568
Cyhalothrin	0,105	95,0	0,0038	0,0071	3,81	7,18	0,0108	0,0202
Permethrin	0,954	97,4	0,0302	0,0519	3,27	5,59	0,0856	0,1466
Cypermethrin	0,477	97,7	0,0290	0,0385	6,20	8,26	0,0822	0,1088
Fenvalerate	0,954	100,5	0,0462	0,0772	4,84	8,04	0,1308	0,2184
Fluvalint	0,954	88,2	0,0534	0,0884	6,28	10,48	0,1509	0,2502
Deltamethrin	0,191	101,5	0,0158	0,0188	8,09	9,70	0,0446	0,0532