

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.263 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 15/6/2018 Trang: 1/7
--	--	--

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TẠP CHẤT PHENOL TRONG
PHỤ GIA THỰC PHẨM BẰNG HỆ THÔNG SẮC KÝ KHÍ
GHÉP KHỐI PHỔ (GC/MS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
LA THỊ TRÂM	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1			
2			
3			

Phần A TỔNG QUAN

I. PHẠM VI ÁP DỤNG

Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng tạp chất Phenol trong nền mẫu phụ gia thực phẩm. Giới hạn phát hiện của phương pháp là 0.01%.

II. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Method EPA 8270D (1998): Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

III. NGUYÊN TẮC

Mẫu được hòa tan trong dung môi Acetonitril (ACN) và được phân tích bằng hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ GC/MS.

IV. THÔNG TIN AN TOÀN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Tuân thủ các nguyên tắc hoạt động phòng thí nghiệm

Sử dụng tủ hút, kính bảo hộ và găng tay khi cần thiết.

Các dung môi hữu cơ và các chất thải như ACN, aceton phải được thu hồi vào các thùng chứa có dán nhãn và lưu giữ như các hóa chất thải độc hại.

V. THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ PHÂN TÍCH

1. Dụng cụ và thiết bị cơ bản

Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg,

Máy ly tâm 50ml và 15mL

Bình định mức 10 mL

Micropipet các loại 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L, 5000 μ L

Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.

Màng lọc 0.45 μ m, vial và xy lạnh.

Phễu lọc bằng thủy tinh.

Bếp đun cách thủy.

Bình cầu 100mL.

Pipet 5mL.

2. Thiết bị phân tích

Hệ thống sắc ký khí ghép khối một tứ cực GCMS 5973 hoặc tương đương.

VI. HÓA CHẤT VÀ CHẤT CHUẨN

1. Hóa chất

Nước cất một lần và nước cất khử ion.

Dung môi Acetone, Acetonitril hãng J.Backer hoặc tương đương

2. Chất chuẩn

Phenol của Merck hoặc tương đương.

Dung dịch chuẩn Phenol 10000 mg/kg: cân chính xác khoảng 100 mg chuẩn rắn vào bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng Acetone.

Lưu ý đến độ tinh khiết của chất chuẩn. Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

$$C(mg/L) = \frac{m(mg) \times 1000}{V(ml)} \times P$$

Trong đó: C là nồng độ chất chuẩn có trong dung dịch ($\mu\text{g/mL}$).

m là khối lượng cân của chất chuẩn (mg).

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

Dung dịch chuẩn trung gian Phenol 1000 mg/kg: Rút 1mL dung dịch chuẩn gốc cho vào bình định mức 10mL, định mức đến vạch bằng ACN.

Dung dịch chuẩn trung gian Phenol 100 mg/L: Rút 1mL dung dịch chuẩn 1000 mg/kg cho vào bình định mức 10mL, định mức đến vạch bằng ACN.

Pha các dung dịch dãy chuẩn có nồng độ theo bảng sau:

Nồng độ dãy chuẩn (mg/L)	1	2	5	10
Thể tích dung dịch chuẩn trung gian 100 mg/L(mL)	0.1	0.2	0.5	1

Thể tích định mức 10mL ACN	
-------------------------------	--

Bảo quản và lưu trữ:

Dung dịch chuẩn gốc lưu ở 2-8⁰C, sử dụng trong thời gian 1 năm dựa theo EPA 8270D.

Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc và đường chuẩn sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (8⁰C), sử dụng trong thời gian 6 tháng,

VII. KIỂM SOÁT QA/QC

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

Mẫu Blank hóa chất.

Mẫu Blank matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.

Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát 0.1%

1. Mẫu blank hóa chất

Phân tích ít nhất một mẫu blank hóa chất trong mỗi lần thực hiện phân tích. Đánh giá kết quả dựa vào giới hạn $0 \pm 0.001 \%$

Nếu mẫu blank hóa chất ngoài giới hạn kiểm soát, kiểm tra xem dụng cụ, hoá chất, chất chuẩn có bị nhiễm bẩn không. Nếu bị nhiễm bẩn, làm sạch dụng cụ bằng aceton hoặc metanol. Kiểm tra chất lượng nguồn nước của phòng thí nghiệm. Sử dụng hóa chất và chất chuẩn mới nếu thấy cần thiết.

2. Mẫu Blank matrix:

Mẫu blank không phát hiện chất phân tích hoặc phát hiện ở nồng độ nhỏ hơn LOD

3. Mẫu thêm chuẩn (QC)

Tiến hành xử lý mẫu blank theo quy trình.

Nồng độ chuẩn thêm vào ở mức 0.1 %, khoảng 10 mẫu thông thường thì thực hiện kèm theo 1 mẫu QC.

Tính toán độ thu hồi theo phương trình

$$R(\%) = \frac{C_s - C}{S} \times 100$$

Trong đó:

R = Độ thu hồi

C_s = Nồng độ mẫu thêm chuẩn

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ của chất phân tích thêm vào mẫu

Phần B PHÂN TÍCH MẪU

I. XỬ LÝ MẪU

Cân chính xác khoảng 1 g mẫu cho vào bình định mức 10 mL.

Hòa tan mẫu bằng Acetonitril và định mức lên 10 mL. Lọc mẫu vào vial

Phân tích trên GCMS.

1. Điều kiện phân tích GC/MS

Cột DB-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25μm)

- Khí mang: Heli
- Chương trình nhiệt: 60 °C (2 phút), tăng 12 °C/phút đến 120 °C (3 phút), tăng 12°C/phút đến 220 °C (1 phút).
- Chế độ tiêm: không chia dòng.
- Tốc độ dòng: 2.3 ml/phút ở chế độ đẳng áp P=22.6 PSI tại 90 °C.
- Nhiệt độ buồng tiêm: 220 °C.
- Nhiệt độ transferline: 220 °C.

3. Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 220 °C
- Dòng phát xạ: 34.6 μA
- Tứ cực: nhiệt độ 280 °C

- Chế độ: SIM

St t	Hợp chất	Ion định lượng	Ion định tính		
1	Phenol	94	66	65	95

4. Trình tự của quá trình tiêu mẫu trên thiết bị phân tích.

Dung môi trắng → Các chuẩn có nồng độ từ thấp tới cao → Dung môi trắng → Mẫu cần kiểm nghiệm → Mẫu thêm chuẩn → Chuẩn kiểm tra.

II. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích và nồng độ của chuẩn

Hàm lượng chất phân tích trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C = C_0 \times f$$

C: nồng độ chất phân tích trong dịch ngâm chiết, mg/L.

C₀: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, mg/L

f: hệ số pha loãng (nếu có)

III. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

Đồ thị tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với $R^2 \geq 0.99$

Độ thu hồi: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.

Tỷ số ion: Cường độ tương đối của ion định tính phải nằm trong khoảng cho phép.

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép
>50%	±20%
20-50%	±25%

10%-20%	$\pm 30\%$
<10%	$\pm 50\%$

Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart): Giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận vào control chart sau mỗi lô mẫu phân tích thực tế ở mức spike 0.1%.

IV. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu: BM.15.04a và BM.15.06