

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 1/7
--	--	--

**XÁC ĐỊNH TRIFLURALIN TRONG THỦY SẢN TRÊN THIẾT BỊ SẮC
KÝ KHÍ GHÉP KHỐI PHỔ - GC/MS**

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

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi biểu mẫu	30/03/2018
2	B.II.2.a,b	Thay đổi các điểm chuẩn, chuẩn gốc	30/03/2018
3	B.V.2.2	Thay đổi điều kiện GC: Chương trình nhiệt, cột sắc kí	30/03/2018
4			

A. TỔNG QUAN

I. Phạm vi áp dụng

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 2/7
---	----------------------------------	--

Phương pháp này áp dụng để xác định Trifluralin trong thủy sản bằng phương pháp chiết QuEChERS và phân tích trên thiết bị sắc kí khí ghép đầu dò khối phổ GC/MS.

Giới hạn phát hiện của phương pháp (LOD) và giới hạn định lượng đối với Trifluralin lần lượt là 1.0 ppb và 3.0 ppb.

II. Tài liệu tham khảo

AOAC Official Method 2007.01: Pesticides Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate.

III. Nguyên tắc

Mẫu sau khi được đồng nhất được chiết QuEChERS bằng dung môi ACN/đệm acetate theo AOAC 2007.01. Dịch chiết được cleanup và phân tích trên thiết bị GC/MS.

IV. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm

Đeo khẩu trang, găng tay khi thực hiện phân tích.

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 isooctane phải được thu hồi vào các thùng chứa có dán nhãn và lưu giữ như các hóa chất thải độc hại.

B. PHÂN TÍCH

I. Thiết bị và dụng cụ phân tích

1. Dụng cụ và thiết bị cơ bản

- Micropipet loại 20 µL, 200 µL và 1000 µL.
- Cân phân tích, độ chính xác 0.1 mg.
- Ống ly tâm dung tích 50 ml, 15 ml.
- Máy vortex, máy ly tâm
- Tủ đông (-18°C)
- Máy xay đồng nhất mẫu

2. Thiết bị phân tích

- Agilent 6890GC / HP 5972MS hoặc tương đương.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 3/7
---	----------------------------------	--

- Cột mao quản HP5-MS: 30m x 0.25 mm x 0.25 µm hoặc tương đương.

3. Hóa chất và chất chuẩn

a. Hóa chất (hãng Fisher hoặc tương đương)

Nước cất khử ion

- Acetonitrile (ACN)
- Muối $\text{MgSO}_4:\text{CH}_3\text{COONa}$ (tỉ lệ 4:1): Cân 4g MgSO_4 và 1g CH_3COONa
- Muối clean up MgSO_4 , C18: Cân 150 mg MgSO_4 và 50mg C18

b. Chất chuẩn

- **Chuẩn gốc:** Trifluralin (Chem service hoặc tương đương). Chất chuẩn được lưu trữ đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất

- Dung dịch chuẩn gốc

Chuẩn Trifluralin 2000 mg/L: Cân chính xác khoảng 20 mg chuẩn Trifluralin vào bình định mức 10 ml, hòa tan và định mức tới vạch bằng ACN. Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

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

Trong đó: C là nồng độ chất chuẩn có trong dung dịch (mg/L).

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

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

Chuẩn 10.0 mg/L: Rút 50.0 µL chuẩn Trifluralin 2000 mg/L vào bình mức 10 ml. Định mức tới vạch bằng ACN.

Chuẩn 1.0 mg/L: Rút 1 ml chuẩn Trifluralin 10 mg/L vào bình mức 10 ml. Định mức tới vạch bằng ACN.

Chuẩn 100.0 µg/L: Rút 1 ml chuẩn Trifluralin 1 mg/L vào bình mức 10 ml. Định mức tới vạch bằng ACN.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 4/7
---	----------------------------------	--

Bảo quản và lưu trữ: Các dung dịch chuẩn được chứa trong các ống thủy tinh kín và trữ trong tủ mát (4-8⁰C), sử dụng trong thời gian 1 năm

- Đường chuẩn:

Định lượng: Pha đường chuẩn Trifluralin như trong bảng sau:

Trifluralin (ug/L)	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5
	1	2.5	5	10	20
Trifluralin 100 ug/L (uL)	10	25	50	100	200
IS α-HCH 10 mg/L (uL)	20				
ACN (uL)	970	955	930	880	780

Định tính: Chạy 1 điểm chuẩn định tính với những mẫu thường không phát hiện

Bảo quản và lưu trữ: Các dung dịch đường chuẩn được chứa trong các ống thủy tinh kín và trữ trong tủ mát (4-8⁰C), sử dụng trong thời gian 1 tháng

4. 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 matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
- QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát 10 ppb

a. Mẫu Blank matrix:

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

b. Mẫu thêm chuẩn (QC)

- Phân tích ít nhất 01 mẫu thêm chuẩn khi phân tích một lô mẫu.
- Tính toán độ thu hồi theo phương trình

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

Trong đó:

R = Độ thu hồi

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 5/7
---	----------------------------------	--

C_s = Nồng độ mẫu thêm chuẩn

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ chất phân tích thêm vào mẫu

5. Xử lý mẫu

a. Chuẩn bị mẫu:

Theo “ Hướng dẫn công việc đồng nhất mẫu trong phòng thí nghiệm – HD.KT.022”

b. Phương pháp tiến hành

Chiết QuEChERS: Cân 10 g mẫu đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml,. Thêm 5 ml nước DI, vortex khoảng 30s. Sau đó thêm 10 ml ACN (1% acid acetic), đậy nắp, lắc mạnh khoảng 1 – 2 phút. Thêm tiếp vào hỗn hợp $MgSO_4$ (4 g) và CH_3COONa (1 g), lắc trong vòng 1 phút. Ly tâm với tốc độ 3500 vòng/phút (khoảng 3 – 5 phút).

Lưu dịch chiết trong tủ đông ($-18^{\circ}C$) khoảng 1 giờ.

Lấy 1 ml dịch chiết cho vào ống ly tâm 15 ml đã có chứa sẵn hỗn hợp muối $MgSO_4$: C18 (3:1). Vortex trong vòng 2 phút, ly tâm 4000 vòng/phút trong vòng 5 phút.

Chuyển dịch chiết sau ly tâm vào vial và phân tích trên thiết bị GC/MS.

6. Phân tích

a. Điều kiện GC:

- Cột : HP5-MS: 30 m x 0.25 mm x 0.25 μm .
- Tốc độ dòng: 0.5 mL/phút.
- Nhiệt độ Inlet: 260 $^{\circ}C$; detector: 280 $^{\circ}C$; chế độ tiêm không chia dòng.
- Chương trình nhiệt:

Tốc độ tăng nhiệt ($^{\circ}C$ /phút)	Nhiệt độ ($^{\circ}C$)	Thời gian giữ (phút)
	100	0
5	120	3
5	150	3

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 6/7
---	----------------------------------	--

10	245	5
----	-----	---

- Solvent delay: 4.0 phút

b. Điều kiện MS:

- Nguồn ion hóa: EI
- Chế độ: SIM

Ion định lượng: 306

Ion định tính: 280, 264

c. Trình tự của quá trình tiêm 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.

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Hàm lượng Trifluralin trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C = \left(\frac{C_0 \times V_{\text{extract}}}{m \times 1000} \times f \right)$$

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu (mg/kg)
- C₀: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn (ug/L)
- V_{extract}: Thể tích dịch chiết
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân (g)

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

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

Độ thu hồi: 60 – 115%

Độ lệch thời gian lưu không quá 0.5 % cho GC

Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart)

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN. 041 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 01/04/2018 Trang: 7/7
---	--	--

- Tỷ số ion

Cường độ tương đối của ion định tính so với ion định lượng phải nằm trong khoảng cho phép:

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép của GC-EI-MS
> 50 %	± 10 %
20 – 50 %	± 15 %
10 – 20 %	± 20 %
< 10 %	± 50 %

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ

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