

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 1/8
--	--	--

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG 3-MCPD TRONG NƯỚC CHẤM CÓ
NGUỒN GỐC ĐẬU TƯƠNG 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 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		Thay đổi format SOP	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

A. TỔNG QUAN

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 2/8
---	----------------------------------	---

I. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này áp dụng để xác định hàm lượng 3-MCPD (3-chloro-1,2-propanediol trong một số nước chấm có nguồn gốc từ đậu tương: nước tương, nước tương tỏi ớt, xì dầu,... Giới hạn phát hiện của phương pháp là 3.3 ug/kg.

II. Tài liệu tham khảo

[1] AOAC Official Method 2000.01: Determination of 3-chloro-1,2-propanediol in foods and food ingredients.

[2] Tiêu chuẩn ngành y tế 52 TCN-TQTP 0010:2005: Thường quy kỹ thuật xác định 3-chloro propan 1,2-diol (3-MCPD) trong một số loại nước chấm gia vị.

[3] Journal of Agricultural and Food chemistry: Simultaneous analysis of 3-MCPD and 1,3-DCP in Asian style sauces using QuEChERS extraction and gas chromatography – Triple quadrupole mass spectrometry.

III. Nguyên tắc

Mẫu được chiết QuEChERS bằng dung môi ACN. Sau đó được tạo dẫn xuất với dung dịch toluene sulfonic acid trong acetone tạo thành 4-(chloromethyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxolane. Dẫn xuất này được xác định trên 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. Thiết bị cơ bản

- Micropipet loại 20 μ L, 200 μ L và 1000 μ L.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 3/8
---	----------------------------------	---

- Cân phân tích, độ chính xác 0.1 mg.
- Bếp điện.
- Ống Hatch dung tích 10 ml.
- Thiết bị thổi khí.
- Ống ly tâm dung tích 50 ml, 15 ml.
- Pasteur pipet thủy tinh.
- Nhiệt kế.
- Bình cầu với dung tích 100 ml.

2. Thiết bị phân tích

- Agilent 6890GC / HP 5972MS hoặc tương đương.
- Cột : HP-5ms: 30 m x 0.25 mm x 0.25 µm hoặc tương đương.

II. Hóa chất và chất chuẩn

1. Hóa chất (hãng Fisher hoặc tương đương)

- Nước cất khử ion
- Dung môi isooctane, acetone, acetonitrile, ethyl acetate
- Muối NaCl, MgSO₄, C18
- Acid Toluene sulfonic: Cân 800 mg acid Toluene sulfonic vào bình mức 10 ml. Hòa tan và định mức tới vạch bằng acetone.

2. Chất chuẩn

a. Chuẩn gốc

- 3-MCPD và 3-MCPD-d5 của Chem service hoặc tương đương

Bảo quản và lưu trữ: Các dung dịch chuẩn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất.

b. Dung dịch chuẩn gốc

Chuẩn 2000 mg/L: Cân chính xác khoảng 20 mg chuẩn 3-MCPD vào bình định mức 10 ml, hòa tan và định mức tới vạch bằng ethyl acetate. Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

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

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 4/8
--	--	--

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 3-MCPD 10 mg/L: Rút 50 μ L chuẩn 3-MCPD 2000 mg/L vào bình mức 10 ml. Định mức tới vạch bằng DI.

Chuẩn 3-MCPD-d5 2000 mg/L và 10 mg/L được chuẩn bị tương tự như trên.

Bảo quản và lưu trữ: Các dung dịch chuẩn được lưu trữ trong tủ mát (4-8°C), sử dụng trong 1 năm

Định tính: Chạy một điểm chuẩn định tính 20 ppb với các mẫu thường không phát hiện.

Định lượng: Đường chuẩn 3-MCPD theo bảng sau:

3-MCPD (ppb)	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7
	2.5	5	10	20	50	100	200
3-MCPD 10 ppm (uL)	3.8	7.5	15	30	75	150	300
IS 3-MCPD-d5 10 ppm (uL)	50						
Nước DI (g)	15						

Đường chuẩn được chiết và tạo dẫn xuất tương tự như mẫu (Phần IV.2 Phương pháp tiến hành).

III. **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:

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 5/8</p>
--	--	---

- Mẫu Blank hóa chất.
- Mẫu Blank matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
- Mẫu QC: Mẫu spike vào mẫu blank để kiểm soát hiệu suất thu hồi

1. Mẫu blank hóa chất

- Phân tích ít nhất một mẫu blank hóa chất trong mỗi lần thực hiện phân tích.
- Nếu mẫu blank hóa chất ngoài giới hạn kiểm soát, kiểm tra xem dụng cụ, hoá chất, chất chuẩn có bị nhiễm bẩn không. Trường hợp không thể loại bỏ hoàn toàn chất phân tích ra khỏi nền mẫu blank thì thực hiện blank lặp lại 3 lần và trừ nền.

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)

- Phân tích 01 mẫu thêm chuẩn sau khi phân tích 20 mẫu hoặc một mẻ mẫu. Mẫu thêm chuẩn được thực hiện cùng lúc với lô mẫu phân tích.
- 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

IV. Xử lý mẫu

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 6/8
---	----------------------------------	---

1. Chuẩn bị mẫu:

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

2. Phương pháp tiến hành

a. Quá trình chiết QuEChERS

Chiết QuEChERS: Mẫu sau khi được đồng nhất. Cân chính xác khoảng 15 g mẫu vào ống ly tâm 50 ml. Thêm 50 μ L nội chuẩn 3-MCPD-d5 10 mg/L. Thêm chính xác 15 ml ACN. Lắc mạnh trong vòng 3 phút. Thêm 4.5 (g) muối NaCl, lắc đều tiếp 3 phút. Sau đó ly tâm trong vòng 2 phút với tốc độ 3000 rpm.

Clean up và làm giàu: Clean up tất cả dịch chiết với 3.3 g hỗn hợp $MgSO_4$: C18 (3:1). Rút 8 (ml) dịch chiết vào bình cầu dung tích 100 ml. Cô quay tới cạn khô. Cho 1.5 ml ACN, votex đều. Rút toàn bộ dịch trong bình cầu clean up với hỗn hợp 50 mg C18 và 50 mg PSA, votex đều. Rút 1ml dịch đã clean up vào ống Hatch.

b. Quá trình tạo dẫn xuất

Thêm vào ống Hatch 1 ml dung dịch acid toluene sulfonic đã được pha ở trên. Đem đun ở nhiệt độ 60 °C trong vòng 30 phút. Tiếp theo lấy ống Hatch ra để nguội tới nhiệt độ phòng. Cho thêm 5 ml nước DI và 1 ml Isooctane, lắc đều trong vòng 3 phút. Rút lớp isooctane vào vial và đem phân tích với thiết bị GC/MS.

V. Phân tích

1. Thông số thiết bị

Điều kiện GC:

- Cột : HP-5ms: 30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m.
- Tốc độ dòng: 1.2 mL/phút.
- Nhiệt độ Inlet: 260 °C; detector: 280 °C.
- Chương trình nhiệt:

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VỮ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 7/8
---	----------------------------------	---

Tốc độ tăng nhiệt (°C/phút)	Nhiệt độ (°C)	Thời gian giữ (phút)
	60	1
5	90	0

Điều kiện MS:

- Nguồn ion hóa: EI, nhiệt độ 3000 °C
- Chế độ: SIM

m/z 3-MCPD: 101; 135; 137.

m/z 3-MCPD-d5: 104; 140; 142.

2. 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.

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Hàm lượng 3-MCPD trong mẫu được tính toán theo công thức:

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

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, mg/kg
- C₀: nồng độ chất phân tích xác định trên máy, mg/L
- V_{extract}: Thể tích định mức, mL
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân

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: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.

Độ lệch thời gian lưu không quá 0.5 % cho GC

Độ lệch của dung dịch chuẩn kiểm tra không quá 15 %

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

- Tỷ số ion

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.002 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 8/8
--	--	--

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