

Lời nói đầu

TCVN 8324 : 2010 do Cục Bảo vệ thực vật 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.

Rau quả – Xác định dư lượng cymoxanil –

Phương pháp sắc kí khí

Vegetables and fruits – Determination of cymoxanil residue –

Gas chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật cymoxanil trong rau và quả bằng sắc kí khí.

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 cymoxanil trong mẫu thử được chiết bằng dung môi axeton, sau đó làm sạch qua cột silicagel và được xác định bằng thiết bị sắc kí khí với detector nitơ-phospho (NPD).

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, nước ít nhất đạt tiêu chuẩn loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696) hoặc nước cất hai lần, trừ khi có qui định khác.

4.1 Axeton, tinh khiết phân tích.

4.2 Toluen, tinh khiết phân tích.

4.3 Ete dầu mỏ, nhiệt độ sôi trong dải từ 40 °C đến 60 °C.

4.4 Diclometan, tinh khiết phân tích.

4.5 Natri sulfat khan, hoạt hoá ở 130 °C trong 8 h, để nguội trong bình hút ẩm, bảo quản trong bình kín.

4.6 Silicagel 60 GF₂₅₄ giảm hoạt hoá 10 % nước

Hoạt hoá silicagel 60 ở 130 °C trong 12 h, để nguội trong bình hút ẩm, giảm hoạt hoá bằng nước cất hai lần với tỷ lệ khối lượng 1 : 9. Lắc đều bằng máy lắc tròn (5.16), bảo quản trong bình kín 24 h trước khi sử dụng.

4.7 Hỗn hợp dung môi 1, chứa *n*-hexan và toluen với tỉ lệ thể tích *n*-hexan : toluen bằng 9 : 1.

4.8 Hỗn hợp dung môi 2, chứa *n*-hexan và etyl axetat với tỉ lệ thể tích *n*-hexan : etyl axetat bằng 9 : 1.

4.9 Hỗn hợp dung môi 3, chứa *n*-hexan và etyl axetat với tỉ lệ thể tích *n*-hexan : etyl axetat bằng 6 : 4.

4.10 Chất chuẩn cymoxanil, đã biết độ tinh khiết.

4.11 Dung dịch chuẩn gốc, nồng độ 1 000 µg/ml

Dùng cân phân tích (5.10) cân 0,01 g chất chuẩn cymoxanil (4.10), chính xác đến 0,01 mg, cho vào bình định mức dung tích 10 ml (5.1), thêm toluen (4.2) đến vạch và trộn.

4.12 Dung dịch chuẩn trung gian, nồng độ 10 µg/ml

Dùng micropipet (5.3) lấy 200 µl dung dịch chuẩn gốc cymoxanil (4.11) cho vào bình định mức dung tích 20 ml (5.1), thêm hỗn hợp dung môi 1 (4.7) đến vạch và trộn.

4.13 Dung dịch chuẩn làm việc

Pha loãng liên tục dung dịch chuẩn trung gian (4.11) để thu được 3 dung dịch chuẩn làm việc với các nồng độ tương ứng là 1 µg/ml (dung dịch chuẩn làm việc 1), 0,5 µg/ml (dung dịch chuẩn làm việc 2) và 0,05 µg/ml (dung dịch chuẩn làm việc 3).

Các dung dịch chuẩn làm việc được bảo quản ở 4 °C và có thời hạn sử dụng là 6 tháng.

4.14 Khí heli, có độ tinh khiết không nhỏ hơn 99,999 %.

4.15 Khí hydro, có độ tinh khiết không nhỏ hơn 99,999 %.

4.16 Không khí nén dùng cho thiết bị sắc kí khí.

5 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm như sau:

5.1 Bình định mức, dung tích 10 ml và 20 ml.

5.2 Pipet, dung tích 1 ml, 2 ml và 5 ml.

5.3 Micropipet, có thể đo từ 50 μ l đến 200 μ l

5.4 Cốc ly tâm polypopylen, dung tích 250 ml hoặc loại tương đương.

5.5 Bình nón, dung tích 100 ml.

5.6 Cột làm sạch có khoá teflon, có chiều dài 35 cm, đường kính 1,5 cm, hoặc loại tương đương.

5.7 Xyranh, dung tích 10 μ l, chia vạch đến 1 μ l.

5.8 Bông thủy tinh đã được silan hoá.

5.9 Ống đong, dung tích 25 ml, 50 ml và 100 ml.

5.10 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,01 mg.

5.11 Cân kỹ thuật, có thể cân chính xác đến 0,01 g.

5.12 Thiết bị đồng nhất Ultra-Turrax, tốc độ không nhỏ hơn 13 500 r/min.

5.13 Thiết bị cô quay chân không.

5.14 Máy nghiền mẫu.

5.15 Máy ly tâm, tốc độ không nhỏ hơn 2 000 r/min, có ống ly tâm dung tích 250 ml.

5.16 Máy lắc tròn.

5.17 Thiết bị sắc ký khí, được trang bị như sau:

- buồng bơm mẫu, chia dòng và không chia dòng;

- detector nito – phospho (NPD);

- cột mao quản DB-5, có chiều dài 30 m, đường kính 0,32 mm, chiều dày pha tĩnh 0,25 μ m, hoặc loại tương đương;

- máy vi tính.

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).*

7 Cách tiến hành

7.1 Yêu cầu chung

Toàn bộ quá trình phân tích nên được thực hiện trong ngày. Nếu không phân tích được trong ngày thì phải bảo quản dịch mẫu ở 4 °C.

7.2 Chuẩn bị mẫu

Mẫu thử được nghiền trong máy nghiền mẫu (5.14) đến khi đồng nhất.

7.3 Chuẩn bị phần mẫu thử

7.3.1 Chiết tách

Dùng cân (5.11) cân khoảng 20 g mẫu thử (*m*) đã được đồng nhất (xem 7.2), chính xác đến 0,01 g, vào cốc ly tâm dung tích 250 ml (5.4). Thêm vào cốc 40 ml axeton, đồng hoá trong 30 s bằng thiết bị Ultra-Turrax (5.12) với tốc độ 13 500 r/min, thêm lần lượt 40 ml ete dầu mỏ, 40 ml diclometan, 5 g natri sulfat khan, đồng hoá trong 30 s bằng thiết bị Ultra-Turrax (5.12) với tốc độ 13 500 r/min, sau đó ly tâm bằng thiết bị ly tâm (5.15) với tốc độ 2 000 r/min trong 10 min, thu toàn bộ dịch chiết và ghi lại thể tích (*V*₁). Dùng ống đong (5.9) lấy 60 ml (*V*₂) dịch lỏng thu được cho vào bình nón dung tích 100 ml (5.5) và cô cạn (lâm bay hơi) bằng thiết bị cô quay chân không (5.13) ở 40 °C.

7.3.2 Làm sạch

7.3.2.1 Chuẩn bị cột làm sạch

Cho lần lượt vào cột làm sạch (5.6):

- bông thủy tinh (5.8);
- 2 g natri sulfat khan (4.5);
- 10 g silicagel 60 10 % nước (4.6);
- 2 g natri sulfat khan (4.5).

Dùng ống đóng (5.9) chuyển 50 ml *n*-hexan vào cột để rửa cột, loại bỏ dịch rửa. Đóng khoá cột làm sạch, lưu ý không để cột khô (để 1 cm dung môi trên bề mặt chất làm sạch).

7.3.2.2 Tiến hành làm sạch

Dùng pipet (5.2) lấy 5 ml etyl axetat hoà tan dư lượng trong bình nón (xem 7.3.1), chuyển vào cột làm sạch đã được chuẩn bị (xem 7.3.2.1). Mở khoá cột, dùng 50 ml hỗn hợp dung môi 2 (4.8) rửa giải với tốc độ 5 ml/min, loại bỏ dung dịch rửa giải. Dùng 60 ml hỗn hợp dung môi 3 (4.9) rửa giải với tốc độ 5 ml/min, thu dịch rửa giải. Cô cạn (làm bay hơi) bằng thiết bị cô quay chân không (5.14) ở 40 °C, dùng 2 ml (V_E) hỗn hợp dung môi 1 (4.7) để hòa tan dư lượng thu được phần mẫu thử.

7.4 Chuẩn bị phần mẫu trắng

Mẫu trắng là mẫu được biết trước không có dư lượng cymoxanil, được chuẩn bị theo quy trình trong 7.3.

7.5 Chuẩn bị phần mẫu kiểm tra hiệu suất thu hồi

Dùng cân (5.11) cân khoảng 20 g mẫu trắng đã được đồng nhất (7.2), chính xác đến 0,01 g, vào cốc ly tâm dung tích 250 ml (5.4). Dùng micropipet (5.3) thêm 200 μ l dung dịch chuẩn trung gian (4.12), để yên trong nhiệt độ phòng tối thiểu 15 min. Tiếp tục thực hiện theo 7.3.

7.6 Điều kiện phân tích

Nhiệt độ buồng bơm mẫu:	240 °C;
Thể tích bơm mẫu:	2 μ l, không chia dòng;
Nhiệt độ cột tách:	nhiệt độ ban đầu 80 °C giữ trong 1 min, tăng 40 °C/min đến nhiệt độ 160 °C, tăng 3 °C/min đến 250 °C, tăng 10 °C/min đến nhiệt độ cuối 280 °C và giữ trong 10 min;
Tốc độ khí mang (He):	1,7 ml/min;
Nhiệt độ detector:	270 °C;
Tốc độ khí hydro (H ₂):	4 ml/min;
Tốc độ dòng không khí:	120 ml/min;
Tốc độ khí heli bổ trợ:	10 ml/min.

7.7 Dụng đường chuẩn

Dụng đường chuẩn của chlorothalonil (tương quan giữa diện tích/chiều cao pic và nồng độ chất chuẩn) tại 3 điểm có nồng độ tương ứng trong dung dịch chuẩn làm việc 1, dung dịch chuẩn làm việc 2 và dung dịch chuẩn làm việc 3.

7.8 Xác định

Bơm lần lượt dung dịch phần mẫu trắng (7.4), dung dịch phần mẫu thử (7.3), dung dịch phần mẫu kiểm tra hiệu suất thu hồi (7.5) vào thiết bị sắc ký khí (5.17). Xác định nồng độ các dung dịch dựa vào đường chuẩn. Nếu nồng độ của mẫu thử nằm ngoài đường chuẩn thì điều chỉnh bằng cách pha loãng dung dịch phần mẫu thử (không pha loãng lượng mẫu bơm).

8 Tính kết quả

Dư lượng cymoxanil, X , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức:

$$X = X_0 \times \frac{V_E}{V_2} \times \frac{V_1}{m} \times \frac{P}{100}$$

trong đó:

X_0 là nồng độ cymoxanil được xác định bằng đường chuẩn (7.8), tính bằng microgam trên mililit ($\mu\text{g/ml}$);

V_E là thể tích phần mẫu thử (xem 7.3), tính bằng mililit (ml);

V_1 là thể tích dịch chiết thu được (xem 7.3), tính bằng mililit (ml);

V_2 là thể tích dịch chiết được lấy ra để làm sạch (xem 7.3), tính bằng mililit (ml);

m là khối lượng mẫu thử, tính bằng gam (g);

P là độ tinh khiết của chất chuẩn, tính bằng phần trăm (%).

9 Hiệu suất thu hồi và giới hạn xác định

9.1 Hiệu suất thu hồi của phương pháp: từ 70 % đến 110 %.

9.2 Giới hạn định lượng của phương pháp (LOQ): 0,02 mg/kg.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) 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 đến kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] British Crop Protection Council 2003, The Pesticide Manual.
- [2] Federal Republic of Germany, 1992, Manual of Pesticide Residue Analysis, Volume II.
- [3] Food and Drug Administration of USA, 1994, Pesticide Analysis Manual, Volume I, Section 302, E1.