



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

CHẾ

Phương pháp xác định dư lượng thuốc trừ  
dịch hại methamidophos

TCVN 5158-90

HÀ NỘI

Cơ quan biên soạn: Trung tâm Kiểm dịch hóa chất bảo  
vệ thực vật, Cục trồng trọt và bảo  
vệ thực vật, Bộ Nông nghiệp và công  
nghiệp thực phẩm

Cơ quan đề nghị ban hành:  
Bộ Nông nghiệp và Công nghiệp thực  
phẩm

Cơ quan trình duyệt: Tổng cục Tiêu chuẩn-Đo lường  
Chất lượng

Cơ quan xét duyệt và ban hành:  
Ủy ban Khoa học Nhà nước

Quyết định ban hành số 736/QĐ ngày 31 tháng 12  
năm 1990

!	CHE	! TCVN 5158-90!
!	Phương pháp xác định dư lượng thuốc	!-----!
!	trừ dịch hại methamidophos	! Khuyến khích!
!	TEA	! áp dụng !
!	Method for residue determination	! !
!	of Methamidophos	! !

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định dư lượng Methamidophos trong sản phẩm chè.

1. Lấy mẫu
  - Theo TCVN 1700-86
2. Dụng cụ và hóa chất
  - 2.1. Dụng cụ
    - Cân phân tích;
    - Cân kỹ thuật
    - Máy lắc ;
    - Máy chung cất quay ;
    - Máy nghiền ;
    - Tủ sấy ;
    - Tủ lạnh ;
    - Tủ hút;
    - Bơm hút chân không ;
    - Bình cầu 250ml ;
    - Bình định mức 20ml ;
    - Bình nhọn 25ml ;
    - Bình sắc ký ;
    - Bình hút ẩm ;
    - Bình nón 300, 500ml;
    - Ống đong 10, 50, 100ml ;
    - Phễu con ;
    - Phễu Buchner ;
    - Dụng cụ phun thuốc thử;

- Dụng cụ tráng lớp mỏng ;
- Kính lớp mỏng 20 x 20cm ;
- Bơm tiêm 5, 10, 50  $\mu$ l ;
- Cốc thủy tinh 100, 250 ml ;
- Cột sắc ký 400 x 20mm;
- Đũa thủy tinh ;
- Bông thấm nước ;
- Pipet 0,5 ; 1ml ;
- Ống đếm giọt ;

## 2.2. Hóa chất

- Methamidophos 99% ;
- Axeton TK.PT ;
- Than hoạt tính PT ;
- Natri sunfat khan TK.PT ;
- Etyl axetat TK.PT ;
- Axetonitril TK,PT
- Cyclohexan TK.PT ;
- Công gỗ đỏ chỉ thị
- Silicagen 60 G (sắc ký lớp mỏng);
- Brom lỏng PT ;

## 3. Xử lý mẫu

### 3.1. Chuẩn bị mẫu và chiết suất

Cân 50g mẫu đã nghiền nhỏ vào một bình nón cỡ 300ml, cho 100ml axeton vào, lắc bằng máy lắc trong một giờ. Lọc qua phễu Buchner vào một bình cầu 250ml, tráng bình và phễu với 50ml axeton. Dịch lọc đem cô cạn bằng máy chưng cất quay chân không đến khoảng 5 - 10ml với nhiệt độ nồi cách thủy dưới 40°C.

Dùng một cột thủy tinh 400 x 20mm đã rửa sạch và sấy khô, phía dưới có khóa đóng mở. Dùng kẹp lắp lên giá cho

cột thẳng đứng, khóa ở phía dưới đóng lại. Lót một lớp bông dưới đáy rồi nhồi vào cột 1cm natri sunfat khan, 4g than hoạt tính, 1cm natri sunfat khan phủ lên mặt. Rửa cột với 50ml axeton, mở khóa loại bỏ 20-30ml, khi lớp dung môi còn cách bề mặt lớp hấp phụ 1 - 2cm thì đóng khóa lại. Hòa tan dịch chiết với 10ml axeton rồi đổ vào cột, tráng bình với 2 - 3ml axeton. Rửa giải với 100ml axeton vào một bình cầu 250ml. Dung dịch rửa giải thu được đem chưng cất quay chân không đến khi còn 1 - 2ml với nhiệt độ nổi cách thủy dưới 40°C. Chuyển toàn bộ dịch cô sang bình nhọn, tráng cặn bằng 2 - 3ml axeton. Dùng máy chưng cất quay chân không cô cạn mẫu; Cặn thu được dùng để xác định dư lượng thuốc trừ dịch hại bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

#### 4. Phương pháp xác định

##### 4.1. Chuẩn bị bàn mỏng

Dùng 5 tấm kính 20 x 20cm, rửa sạch bằng xà phòng, tráng hai lần bằng nước cất, đặt lên giá cho khô. Cân 30g Silicagen 60G cho vào bình nón cỡ 300ml, thêm 70ml nước cất, lắc đều hai phút rồi đổ vào dụng cụ tráng lớp mỏng đã điều chỉnh đủ để tráng lên 5 miếng kính 20 x 20cm. Sau khi tráng xong, đặt các bản mỏng ở vị trí thật thẳng bằng ở nhiệt độ phòng cho đến khi khô mới cho vào tủ sấy. Khi tủ sấy đạt đến 110°C thì sấy tiếp một giờ ở nhiệt độ đó. Kếp bản mỏng vào giá, đặt trong bình hút ẩm để bảo quản và dùng dần.

##### 4.2. Chuẩn bị các dung dịch

###### 4.2.1. Dung dịch chuẩn

Cân 20mg với độ chính xác 0,0002g chuẩn Methamidophos vào một bình định mức 20ml. Hòa tan bằng một ít axeton, rồi định mức đến vạch. Đậy nút kín, lắc đều. Bảo quản trong tủ lạnh, giá trị sử dụng một tháng.

###### 4.2.2. Dung dịch khai triển

Phe hệ dung môi Cyclohexan: etyl axetat: axetonitril

với tỷ lệ 50: 20: 15, cho vào bình sắc ký và đậy kín nắp bình để bảo hòa.

#### 4.2.3. Dung dịch phát hiện

Dùng công gỗ đỏ để phát hiện các chấm trên lớp mỏng. Cách pha dung dịch Công gỗ đỏ: hòa tan 0,5g Công gỗ đỏ trong 50ml rượu etylic và 50ml nước cất. Toàn bộ hỗn hợp dùng giấy lọc vào lọ 100 ml. Đậy nút kín để dùng thường xuyên.

#### 4.3. Tiến hành sắc ký

Lấy một bản mỏng đã chuẩn bị sẵn, cạo lớp Silicagen ở hai mép bên cạnh sâu vào 1mm. Dùng thước đo đánh dấu các vị trí sẽ chấm mẫu thử và mẫu chuẩn lên lớp mỏng (các chấm cách nhau từ 2,5 - 3cm, cách mép dưới 1,5 cm và cách hai mép bên từ 1,2 - 1,5cm). Một bản mỏng như vậy có thể chấm từ 6 - 8 chấm. Lấy chính xác 0,5ml axeton cho vào cặn mẫu thử (mục 3.2), đậy nút kín, lắc đều cho tan cặn và tập trung xuống đáy bình nhỏ. Dùng bơm tiêm hút mẫu thử và chấm lên lớp mỏng ở hai vị trí đã định. Vết thứ nhất chấm 20 microlit và vết thứ hai chấm 30 micro lít. Các vị trí khác chấm dung dịch chuẩn với thể tích tăng dần từ 10, 20, 30, 40 microlit. Khi chấm phải khống chế đường kính của vết không quá 3mm. Khi chấm xong đặt mép dưới bản mỏng vào bình sắc ký đã có sẵn dung môi, đậy nắp có bôi vaselin để đảm bảo thật kín. Khi dung môi ngấm lên còn cách mép trên khoảng 2cm thì lấy bản mỏng ra, đánh dấu tuyến dung môi rồi đặt trong tủ hốt 15 phút cho bay hết dung môi.

#### 4.4. Nhận biết

Dùng bình hút âm 400 x 250mm bên trong đặt một lọ brom lỏng. Mở nút lọ đến khi hơi brom bão hòa trong bình thì đặt bản mỏng vào. Đậy kín nắp bình hút âm, sau 15 phút lấy bản mỏng ra đặt vào tủ hốt 10 phút để hơi brom bay đi.

Sau đó phun với dung dịch phát hiện. Các vết màu và chuẩn sẽ xuất hiện màu xanh lam trên nền đỏ thẫm.

## 5. Tính kết quả

5.1. Hiệu suất thu hồi tính bằng % (X) theo công thức:

$$X \% = \frac{X_R - X_0}{X_A} \times 100$$

trong đó:

$X_R$  - lượng hoạt chất tìm thấy trong mẫu trắng đã cho thêm hoạt chất

$X_0$  - lượng hoạt chất tìm thấy trong mẫu trắng

$X_A$  - lượng hoạt chất đưa vào mẫu trắng

X - % thu hồi

## 5.2. Xác định dư lượng thuốc trừ dịch hại

Bằng cách so sánh trực tiếp độ đậm nhạt của vết giữa mẫu chuẩn và mẫu thử ta rút ra lượng thuốc trừ dịch hại là bao nhiêu microgam/ vết, từ đó tính ra dư lượng thuốc trừ dịch hại trong sản phẩm.

Bình thường nếu các vết của mẫu thử nằm trong khoảng thang chuẩn thì ta có thể rút ra được kết quả ngay.

Song có trường hợp vết nhỏ nhất của mẫu thử có giá trị lớn hơn vết lớn nhất của mẫu chuẩn thì phải ước lượng để rút bớt lượng mẫu thử khi làm sắc ký lần sau.

Cũng có trường hợp vết lớn nhất của mẫu thử có giá trị nhỏ hơn vết bé nhất của mẫu chuẩn thì phải tăng lượng mẫu thử để chấm lên lớp mỏng. Có nghĩa là ta phải tạo được các vết của mẫu thử có hàm lượng nằm trong khoảng giới hạn của thang chuẩn. Sau khi khẳng định được nồng độ của vết theo thang chuẩn thì tính kết quả theo công thức sau:

$$R = \frac{X_M}{M} \times \frac{100}{X\%} \quad \text{mg/kg}$$

trong đó:

- R - Dư lượng thuốc trừ dịch hại trong sản phẩm chè (mg/kg)
- $X_M$  - lượng hoạt chất tìm thấy trên lớp mỏng tính theo microgam
- M - số gam nông sản tương ứng với thể tích dịch chiết đã chấm lên một vết trên sắc ký lớp mỏng được chọn để rút ra kết quả

5.3. Các giá trị khác :

- Trị số  $R_f$  : 0,44
- Giới hạn phát hiện: 0,5  $\mu\text{g}$
- Hiệu suất thu hồi (recovery) : 90% .