

CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

CHÈ

**Phương pháp xác định dư lượng thuốc
trừ dịch hại Paration metyl**

TCVN 5159-90

HA NOI

Cơ quan biên soạn:

Trung tâm kiểm dịch hoá chất bảo vệ
thực vật, Cục trồng trọt và bảo vệ thực vật

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

CHÈ Phương pháp xác định dư lượng thuốc trừ dịch hạt Paration metyl Tea Method for determination of Parathion methyl	TCVN 5159-90
	Khuyến khích áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định Paration metyl trong sản phẩm chè bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.

1. Lấy mẫu

Theo TCVN 1700-86

2. Dụng cụ hoá chất

2.1. Dụng cụ theo TCVN 5158-90

2.2. Hoá chất

- Chuẩn Paration metyl 99%;
- n-hexan TK.PT;
- Natri sunfat khan TK. PT;
- Axeton TK.PT;
- Ete etyl TK.PT;
- Rượu etylic 96°TK
- Công gô đỏ chỉ thị;
- Florisil (sắc ký cột) hoạt hoá 8 giờ ở nhiệt độ 200⁰C;
- Brôm lỏng PT;
- Silicagen 60G (sắc ký lớp mỏng)

3. Xử lý mẫu

3.1. Chuẩn bị mẫu và chiết suất

Cân 50 g mẫu chè đã nghiền nhỏ vào bình nón 300ml, cho vào đó 100ml axeton, lắc bằng máy lắc một giờ. Lọc qua phễu lọc Buchner vào một bình cầu 250ml, tráng bình và phễu với 50ml axeton. Dịch lọc được cô cạn bằng máy quay chân không đến khoảng 3-5ml với nhiệt độ nồi cách thuỷ dưới 40⁰C.

3.2. Tinh chế

Dùng một cột thuỷ tinh 400 x 20mm đã rửa sạch và sấy khô, phía dưới có khoá đóng mở. Dùng kẹp lắp lên giá cho cột thẳng đứng, khoá ở phía dưới đóng lại, lót một lớp bông thấm nước ở dưới đáy. Cho 50 ml n-hexan rồi nhồi vào cột 20 g Florisil và phủ lên trên một lớp natri sunfat khan khoảng 1-2 cm, gõ nhẹ cho lớp hấp phụ lắng đều, đồng thời để cho các bọt khí thoát ra. Mở khóa loại bỏ 30 ml dung môi

rửa cột, khi dung môi cách bề mặt lớp hấp phụ khoảng 1-2 cm thì đóng khoá lại. Hoà tan dịch chiết với 10 ml n-hexan rồi đổ vào cột tráng bình với 2-3 ml n-hexan để chuyển toàn bộ dịch chiết vào cột. Rửa giải với 200 ml hỗn hợp dung môi n-hexan: ete etylic với tỷ lệ 85:15. Mở khóa cho tốc độ chảy khoảng 4 ml/phút hứng vào một bình cầu cỡ 500 ml. Dịch thu được đem chưng cất quay chân không với nhiệt độ nổi cách thuỷ dưới 40°C đến còn khoảng 1-2 ml. Chuyển toàn bộ sang bình nhọn, tráng hết dịch bằng 5-10 ml hỗn hợp dung môi trên. Dùng máy chưng cất quay chân không cô cạn mẫu. Cạn thu được để xác định dư lượng thuốc trừ dịch hại bằng sắc ký lớp mỏng.

4. Phương pháp xác định

4.1. Chuẩn bị bản mỏng

Dùng 5 tấm kính 20 x20 cm, rửa sạch bằng xà phòng, tráng 2 lần bằng nước cất, đặt lên giá cho khô. Cân 30 g Silicagen 60 g cho vào bình nón cỡ 300 ml rồi thêm vào đó 70 ml nước cất, lắc đều hai phút, đổ vào dụng cụ tráng lớp mỏng đã điều chỉnh đủ để tráng lên 5 miếng kính 20 x20 cm. Sau khi tráng xong, đặt các bản mỏng ở vị trí thật thẳng bằng ở nhiệt độ phòng cho đến khô rồi mới cho vào tủ sấy. Khi tủ sấy đạt đến nhiệt độ 110°C thì sấy tiếp một giờ ở nhiệt độ đó, xếp 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 20 mg với độ chính xác 0.0002 g chất chuẩn vào một bình định mức 20 ml, hoà tan với một ít axeton, lắc nhẹ cho chuẩn tan hết, sau đó định mức đến vạch, đậy nút kín, lắc đều, bảo quản thường xuyên trong tủ lạnh, giá trị sử dụng trong một tháng.

4.2.2. Dung dịch khai triển sắc ký

Pha hệ dung môi n-hexan: axeton với tỷ lệ 4:1, cho vào bình sắc ký và đậy kín nắp bình để bão hoà.

4.2.3. Dung dịch phát hiện

Dùng công gô đỏ để phát hiện các chấm trên lớp mỏng. Cách pha dung dịch Công gô đỏ: hoà tan 0.5 Công gô đỏ trong 50 ml rượu etylic và 50 ml nước cất. Lọc qua giấy lọc vào một lọ thuỷ tinh 100ml, đậy 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 kính sâu vào 1 mm. Dùng thước đo đánh dấu các vị trí sẽ chấm mẫu thử và mẫu chuẩn lên lớp mỏng (các chấm cách nhau từ 2,5-3 cm, cách mép dưới 1,5 và cách hai mép bên từ 1,2-1,5 cm). Một bản mỏng như vậy có thể chấm từ 6-8 chấm.

Lấy chính xác 0,5 ml axeton cho vào cạn mẫu thử (mục 3.1.1.2) đậy nút kín, lắc đều cho tan cạn và tập trung xuống đáy bình nhọn. Dùng bơm tiêm hút dung dịch mẫu và chấm lên lớp mỏng ở hai vị trí đã định. Vết thứ nhất chấm 20 microlit và vết thứ hai chấm 30 microlit. Các vị trí khác chấm dung dịch chuẩn với thể tích tăng

dần từ 10,20,30,40 microlit, khi chấm phải không chế đường kính của vết không quá 3 mm. Sau khi chấm xong, đặt mép dưới bản mỏng vào bình sắc ký đã pha sẵn dung dịch khai triển. Đậy nắp có bôi vaselin để đảm bảo thật kín. Khi dung môi ngấm lên còn cách mép trên khoảng 2 cm thì lấy bản mỏng ra, đánh dấu tuyến dung môi, rồi đặt vào tủ hốt 15 phút cho bay hết dung môi.

4.4. Nhận biết

Dùng bình hút ẩm 400 x 250 mm, bên trong đặt một lọ brom lỏng. Mở nút lọ đến khi hơi brom bão hoà trong bình thì đặt bản mỏng vào. Đậy kín nắp bình hút ẩm, sau 15 phút lấy bản mỏng ra đặt vào tủ hốt trong 15 phút để hơi brom bay đi. Sau đó phun với dung dịch phát hiện. Các vết mẫu 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 ta 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:

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

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: 2 Mg
- Hiệu xuất thu hồi (recovery): 90%