

Lời nói đầu

TCVN 8319 : 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 đa dư lượng thuốc bảo vệ thực vật –

Phương pháp sắc kí khí

Vegetables and fruits – Determination of pesticide multiresidues –

Gas chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định đồng thời dư lượng các thuốc bảo vệ thực vật (BTVV) trong rau quả, bao gồm acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion, trichlorfon, α -endosulfan, β -endosulfan, iprodion, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, λ -cyhalothrin, permethrin, difenoconazole, propiconazole, chlorothalonil, fipronil và indoxacarb 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 các thuốc BTVV trong mẫu thử được chiết bằng hỗn hợp dung môi axeton và được xác định bằng thiết bị sắc kí khí với detector quang hoá ngọn lửa (FPD) và detector cộng kết điện tử (ECD).

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, nước loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696), trừ khi có quy định khác.

4.1 Axeton, tinh khiết phân tích.

4.2 Diclometan, tinh khiết phân tích.

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

4.4 Toluene, tinh khiết phân tích.

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

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

4.7 Các chất chuẩn acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion, trichlorfon, α -endosulfan, β -endosulfan, iprodion, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, λ -cyhalothrin, permethrin, difenoconazole, propiconazole, chlorothalonil, fipronil và indoxacarb, đã biết độ tinh khiết.

4.8 Dung dịch chuẩn gốc, nồng độ 1 000 $\mu\text{g/ml}$

Dùng cân phân tích (5.7) cân 0,01 g từng chất chuẩn (4.7), chính xác đến 0,01 mg, cho vào các bình định mức dung tích 10 ml (5.1), thêm toluen đến vạch và trộn.

4.9 Dung dịch chuẩn trung gian

4.9.1 Dung dịch chuẩn trung gian 1

Dùng micropipet (5.3) lấy 500 μl các dung dịch chuẩn gốc acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion, dùng pipet (5.2) lấy 2 ml dung dịch chuẩn gốc trichlorfon cho vào bình định mức dung tích 50 ml (5.1), thêm hỗn hợp dung môi (4.5) đến vạch và trộn.

Trong dung dịch chuẩn trung gian 1, các hoạt chất acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$, hoạt chất trichlorfon có nồng độ 40 $\mu\text{g/ml}$.

4.9.2 Dung dịch chuẩn trung gian 2

Dùng micropipet (5.3) lấy 500 μl các dung dịch chuẩn gốc difenoconazole và permethrin; 400 μl các dung dịch chuẩn gốc cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, indoxacarb và iprodion; 200 μl các dung dịch chuẩn gốc chlorothalonil, λ -cyhalothrin, α -endosulfan, β -endosulfan, fipronil, propiconazole cho vào bình định mức dung tích 50 ml (5.1), thêm hỗn hợp dung môi (4.5) đến vạch và trộn.

Trong dung dịch chuẩn trung gian 2, hoạt chất difenoconazole và permethrin có nồng độ 10 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, indoxacarb và iprodion có nồng độ 8 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất chlorothalonil, λ -cyhalothrin, α -endosulfan, β -endosulfan, fipronil và propiconazole có nồng độ 4 $\mu\text{g/ml}$.

4.10 Dung dịch chuẩn làm việc

Pha loãng liên tục dung dịch chuẩn trung gian 1 (4.9.1) và dung dịch chuẩn trung gian 2 (4.9.2) để thu được 6 dung dịch chuẩn làm việc với các mức nồng độ như sau:

- dung dịch chuẩn làm việc 1: các hoạt chất acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion có nồng độ 1 $\mu\text{g/ml}$, hoạt chất trichlorfon có nồng độ 4 $\mu\text{g/ml}$;
- dung dịch chuẩn làm việc 2: các hoạt chất acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion có nồng độ 0,5 $\mu\text{g/ml}$, hoạt chất trichlorfon có nồng độ 2 $\mu\text{g/ml}$;
- dung dịch chuẩn làm việc 3: các hoạt chất acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion có nồng độ 0,02 $\mu\text{g/ml}$, hoạt chất trichlorfon có nồng độ 0,08 $\mu\text{g/ml}$;
- dung dịch chuẩn làm việc 4: các hoạt chất difenoconazole và permethrin có nồng độ 2 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, indoxacarb và iprodion có nồng độ 1,6 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất chlorothalonil, λ -cyhalothrin, α -endosulfan, β -endosulfan, fipronil và propiconazole có nồng độ 0,8 $\mu\text{g/ml}$;
- dung dịch chuẩn làm việc 5: các hoạt chất difenoconazole và permethrin có nồng độ 0,4 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, indoxacarb và iprodion có nồng độ 0,32 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất chlorothalonil, λ -cyhalothrin, α -endosulfan, β -endosulfan, fipronil và propiconazole có nồng độ 0,16 $\mu\text{g/ml}$;
- dung dịch chuẩn làm việc 6: các hoạt chất difenoconazole và permethrin có nồng độ 0,025 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, indoxacarb và iprodion có nồng độ 0,02 $\mu\text{g/ml}$, các hoạt chất chlorothalonil, λ -cyhalothrin, α -endosulfan, β -endosulfan, fipronil và propiconazole có nồng độ 0,01 $\mu\text{g/ml}$.

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

4.11 Khí nitơ, có độ tinh khiết không nhỏ hơn 99,999 %.

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

4.13 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, 50 ml và 100 ml.

5.2 Pipet, dung tích 2 ml, 5 ml và 10 ml, chia vạch đến 0,1 ml.

5.3 **Micropipet**, dung tích từ 50 μl đến 200 μl và từ 200 μl đến 1 000 μl .

5.4 **Cốc ly tâm**, dung tích 250 ml.

5.5 **Ống đong**, dung tích 50 ml.

5.6 **Ống nghiệm**, dung tích 15 ml

5.7 **Xyranh**, dung tích 10 μl , chia vạch đến 1 μl .

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

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

5.10 **Thiết bị đồng hoá Ultra-Turrax**, tốc độ không nhỏ hơn 13 500 r/min.

5.11 **Thiết bị thổi khí nitơ**.

5.12 **Máy nghiền mẫu**.

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

5.14 **Thiết bị sắc ký khí 1**, được trang bị như sau:

- buồng bơm mẫu chia dòng và không chia dòng;
- detector quang kế ngọn lửa, kính lọc phospho (FPD/P);
- cột mao quản DB-5, có chiều dài 30 m, đường kính 0,32 mm, chiều dày pha tĩnh 0,25 μm , hoặc loại tương đương;
- máy vi tính.

5.15 **Thiết bị sắc ký khí 2**, được trang bị như sau:

- buồng bơm mẫu chia dòng và không chia dòng;
- detector cộng kết điện tử (ECD);
- cột mao quản DB-5, có chiều dài 30 m, đường kính 0,32 mm, chiều dày pha tĩnh 0,25 μm , 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 quy trình phân tích cần 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 (5.12) đến khi đồng nhất.

7.3 Chuẩn bị phần mẫu thử

Dùng cân (5.9) 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 (5.10) 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 (5.10) với tốc độ 13 500 r/min, sau đó ly tâm bằng thiết bị ly tâm (5.13) với tốc độ 2 000 r/min trong 10 min, thu toàn bộ dịch chiết và ghi lại thể tích (V_1). Dùng pipet dung tích 10 ml (5.2) lấy chính xác 8 ml (V_2) dịch lỏng thu được cho vào ống nghiệm (5.6) và thổi khô hoàn toàn bằng thiết bị thổi khí nitơ (5.11). Hòa tan phần cặn với 2 ml (V_E) hỗn hợp dung môi (4.5) để thu được phần mẫu thử.

7.4 Chuẩn bị phần mẫu trắng

Mẫu trắng là mẫu được biết không có dư lượng acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion, trichlorfon, α -endosulfan, β -endosulfan, iprodion, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, λ -cyhalothrin, permethrin, difenoconazole, propiconazole, chlorothalonil, fipronil và indoxacarb, được chuẩn bị theo quy trình trong 7.3.

7.5 Chuẩn bị phần mẫu kiểm tra hiệu suất thu hồi

Dùng cân (5.9) cân khoảng 20 g mẫu trắng đã được đồng nhất theo 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 1 và 200 μ l dung dịch chuẩn trung gian 2, để yên trong nhiệt độ phòng tối thiểu 15 min. Tiếp tục thực hiện theo 7.3.

7.6 Điều kiện phân tích

7.6.1 Thiết bị sắc ký khí 1

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 (N ₂):	2 ml/min;
Nhiệt độ detector FPD:	220 °C;
Tốc độ khí hydro (H ₂):	75 ml/min;
Tốc độ dòng không khí:	100 ml/min;
Tốc độ nitơ bổ trợ:	60 ml/min.

7.6.2 Thiết bị sắc ký khí 2

Nhiệt độ buồng bơm mẫu:	240 °C;
Thể tích bơm mẫu:	1 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 (N ₂):	2 ml/min;
Nhiệt độ detector ECD:	300 °C;
Tốc độ nitơ bổ trợ:	60 ml/min.

7.7 Dựng đường chuẩn

Dựng đường chuẩn của các thuốc BVTV (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 trên thiết bị sắc ký 1 (5.14).

Dung đường chuẩn của các thuốc BVTV (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 4, dung dịch chuẩn làm việc 5 và dung dịch chuẩn làm việc 6 trên thiết bị sắc ký 2 (5.15).

7.8 Xác định

Bơm lần lượt dung dịch mẫu trắng (7.4), dung dịch mẫu thử (7.3), dung dịch mẫu kiểm tra hiệu suất thu hồi (7.5) vào thiết bị sắc kí khí 1 (5.14) và thiết bị sắc kí khí 2 (5.15). Xác định nồng độ của mẫu thử và mẫu kiểm tra hiệu suất thu hồi bằng 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 từng thuốc BVTV (4.7), X , biểu thị bằng miligam trên kilogram (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 từng thuốc BVTV (4.7) trong mẫu thử được xác định theo 7.8, tính bằng microgam trên mililit ($\mu\text{g/ml}$);

V_E là thể tích phần mẫu thử thu được (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 thổi khô (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)

– Đối với acephate, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenitrothion, profenophos, methidathion, iprodion, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, permethrin, difenoconazole, indoxacarb: 0,05 mg/kg;

- Đối với chlorothalonil, α -endosulfan, β -endosulfan, fipronil, lambda cyhalothrin, propiconazole: 0,02 mg/kg.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

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

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] British Crop Protection Council 2003, The Pesticide Manual.
- [2] Food and Drug Administration of USA, 1994, Pesticide Analysis Manual, Volume I, Section 302, E4.