

## Lời nói đầu

TCVN 8322 : 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 2,4-D – Phương pháp sắc kí khí

*Vegetables and fruits – Determination of 2,4-D residues –*

*Gas chromatographic method*

## 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật 2,4-D 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 2,4-D trong mẫu thử được chiết bằng dung môi metanol, được este hoá và được xác định bằng thiết bị sắc kí khí với 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 qui định khác.

### 4.1 Diclometan.

### 4.2 *n*-hexan.

#### 4.3 Axit sulfuric đậm đặc.

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

#### 4.5 Celite 545.

#### 4.6 Giấy chỉ thị pH.

4.7 Dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, nồng độ 3 M.

4.8 Dung dịch NaOH, nồng độ 5 M.

#### 4.9 Dung dịch NaHCO<sub>3</sub>

Cân 4 g NaHCO<sub>3</sub> vào bình nón dung tích 100 ml, thêm nước đến vạch và trộn.

4.10 Hỗn hợp dung môi 1, chứa nước cất và metanol với tỉ lệ thể tích 2 : 8.

4.11 Hỗn hợp dung môi 2, chứa axit sulfuric đậm đặc và metanol với tỉ lệ thể tích 1 : 9.

4.12 Chất chuẩn 2,4-D và 2,4-D methyl este, đã biết độ tinh khiết.

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

Dùng cân phân tích (5.10) cân 0,01 g từng chất chuẩn 2,4-D và 2,4-D methyl este (4.12), chính xác đến 0,01 mg, cho vào các bình định mức dung tích 10 ml (5.1), thêm *n*-hexan đến vạch và trộn.

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

Dùng micropipet (5.3) lấy 200 µl dung dịch chuẩn gốc 2,4-D methyl este (4.13) cho vào bình định mức dung tích 20 ml (5.1), thêm *n*-hexan đến vạch và trộn.

4.15 Dung dịch chuẩn kiểm tra hiệu suất thu hồi, nồng độ 10 µg/ml

Dùng micropipet (5.3) lấy 200 µl dung dịch chuẩn gốc 2,4-D (4.13) cho vào bình định mức dung tích 20 ml (5.1), thêm *n*-hexan đến vạch và trộn.

4.16 Dung dịch chuẩn làm việc

Pha loãng liên tục dung dịch chuẩn trung gian (4.14) 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.

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

## 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, dung tích từ 50  $\mu$ l đến 200  $\mu$ l

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

5.5 Bình cầu, dung tích 100 ml.

5.6 Bình nón, dung tích 100 ml và 500 ml.

5.7 Phễu chiết, dung tích 100 ml và 250 ml.

5.8 Xyranh, dung tích 10  $\mu$ l, chia vạch đến 1  $\mu$ l.

5.9 Ống đong, dung tích 25 ml.

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

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

5.12 Bộ phễu lọc Buchner.

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

5.14 Thiết bị cô quay chân không.

5.15 Máy nghiền mẫu.

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

5.17 Thiết bị sắc ký khí, 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  $\mu$ m, hoặc loại tương đương;

– máy vi tinh.

## 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 (5.15) đến khi đồng nhất.

### 7.3 Chuẩn bị phân mẫu thử

#### 7.3.1 Chiết tách

Dùng cân (5.11) cân khoảng 50 g (*m*) mẫu thử 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 100 ml hỗn hợp dung môi 1 (4.10) và 5 g celite (4.5), đồng hoá trong 30 s bằng thiết bị Ultra-Turrax (5.13) với tốc độ 13 500 r/min, sau đó lọc bằng bộ lọc Buchner (5.12), tráng rửa bằng 30 ml hỗn hợp dung môi 1 (4.10). Chuyển toàn bộ dịch lọc vào bình nón dung tích 500 ml (5.6), dùng pipet (5.2) thêm 1 ml dung dịch NaOH 5 M (4.8), kiểm tra và điều chỉnh pH khoảng 10. Cô cạn (làm bay hơi) toàn bộ metanol bằng thiết bị cô quay chân không (5.14) ở 40 °C, thu được dung dịch A.

#### 7.3.2 Làm sạch

Chuyển toàn bộ dung dịch A vào phễu chiết dung tích 250 ml (5.7), dùng 50 ml nước cất để tráng rửa. Chiết hai lần, mỗi lần bằng 25 ml diclometan (4.1), loại bỏ pha hữu cơ (pha dưới). Dùng pipet (5.2) thêm 5 ml dung dịch H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 M (4.7), kiểm tra và điều chỉnh pH khoảng 2. Chiết 3 lần, mỗi lần bằng 25 ml diclometan (4.1), thu pha hữu cơ (pha dưới) vào bình cầu dung tích 100 ml (5.5), loại bỏ nước bằng natri sulfat khan (4.4). Cô cạn (làm bay hơi) bằng thiết bị cô quay chân không (5.14) ở 40 °C.

#### 7.3.3 Este hoá

Dùng pipet (5.2) cho 5 ml hỗn hợp dung môi 2 (4.11) vào bình cầu (xem 7.3.2), để yên 10 min ở nhiệt độ phòng, thỉnh thoảng lắc nhẹ. Chuyển dịch đã được este hoá vào phễu chiết dung tích 100 ml (5.7), dùng

15 ml nước cất tráng rửa. Chiết 1 lần bằng 10 ml ( $V_E$ ) *n*-hexan, loại bỏ pha nước (pha dưới). Rửa pha hữu cơ bằng 15 ml dung dịch  $\text{NaHCO}_3$  (4.9). Dùng pipet (5.2) lấy khoảng 2 ml pha hữu cơ (pha trên) để thu được phần mẫu thử.

#### 7.4 Chuẩn bị phần mẫu trắng

Mẫu trắng là mẫu được biết không chứa dư lượng 2,4-D và 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 50 g mẫu trắng đã được đồng nhất (xem 7.2), chính xác đến 0,01 g, vào cốc ly tâm dung tích 250 ml (5.4). Dùng micropipet (5.3) thêm 100  $\mu\text{l}$  dung dịch chuẩn kiểm tra hiệu suất thu hồi (4.16), 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:	1 $\mu\text{l}$ , không chia dòng;
Nhiệt độ cột tách:	nhiệt độ ban đầu 80 °C giữ trong 1 min, sau đó tăng dần với tốc độ tăng 40 °C/min đến nhiệt độ 160 °C, 3 °C/min đến 250 °C, 10 °C/min đến nhiệt độ cuối 280 °C và giữ trong 10 min;
Tốc độ khí mang ( $\text{N}_2$ ):	2 ml/min;
Nhiệt độ detector:	300 °C;
Tốc độ nitơ bổ trợ:	60 ml/min.

#### 7.7 Dụng đường chuẩn

Dụng đường chuẩn của 2,4-D (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 (4.16).

#### 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 (5.17). Xác định nồng độ của 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 2,4-D,  $X$ , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức:

$$X = X_0 \times \frac{V_E}{m} \times \frac{P}{100} \times 0,94$$

trong đó:

$X_0$  là nồng độ 2,4-D được xác định bằng đường chuẩn (xem 7.8), tính bằng microgam trên mililit ( $\mu\text{g/ml}$ );

$V_E$  là thể tích *n*-hexan (xem 7.3.3), 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 (%);

0,94 là hệ số chuyển đổi từ 2,4-D metyl este sang 2,4-D.

## 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): 0,01 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] Federal Republic of Germany, 1992, Manual of Pesticide Residue Analysis, Volume II.