

TCVN

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 6134 : 1996

**CHẤT LƯỢNG ĐẤT - XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG TRONG
ĐẤT 2,4- D TRONG ĐẤT - PHƯƠNG PHÁP SẮC KHÍ
LỎNG HIỆU SUẤT CAO**

Soil quality - Determination of 2.4 - D residue in soil - High - Performance liquid chromatographic method (HPLC)

HÀ NỘI - 1996

LỜI NÓI ĐẦU

TCVN 6134:1996 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC 190 Chất lượng đất biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Chất lượng đất - Xác định dư lượng trong đất 2,4- D trong đất - Phương pháp sắc khí lỏng hiệu suất cao

*Soil quality - Determination of 2,4 - D residue in soil-
High - Performance liquid chromatographic method (HPLC)*

1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định lượng dư lượng 2.4-D trong đất.

Phương pháp này có thể áp dụng để xác định mức độ ô nhiễm đất do sử dụng chất này cũng như các loại hoá chất trừ cỏ thuộc nhóm phenoxyaxetic axit khác để bảo vệ cây trồng, hay do rò rỉ khi vận chuyển, bảo quản.

Giới hạn xác định của phương pháp : 0.01 r r m.

2. Tiêu chuẩn trích dẫn

Tiêu chuẩn này sử dụng cùng với:

- TCVN 5297 : 1995 Chất lượng đất - Lấy mẫu - Yêu cầu chung
- TCVN 5941 : 1995 Chất lượng đất - Giới hạn tối đa cho phép dư lượng hoá chất bảo vệ thực vật trong đất.

3. Định nghĩa

Tiêu chuẩn này dùng các định nghĩa sau:

3.1 Dư lượng chất trừ sinh vật hại trong đất: lượng chất trừ sinh vật hại còn sót lại trong đất chưa bị phân huỷ hoặc chưa bị biến đổi thành các dạng khác.

3.2 Giới hạn phát hiện của máy: Khả năng phát hiện cao nhất của thiết bị phân tích đối với đối tượng phân tích. Khi thiết bị phân tích là máy sắc lí lỏng, giới hạn phát hiện là lượng hoạt

TCVN 6134:1996

chất nhỏ nhất đưa vào máy để thu được pic sắc kí có chiều cao gấp ba lần độ nhiễu đường nền ở độ nhạy tối đa có thể được khi vận hành.

3.3 Giới hạn xác định của phương pháp: nồng độ thấp nhất xác định được trong đối tượng cần phân tích với các điều kiện đã được lựa chọn.

3.4 độ phát hiện (recovery): khả năng xác định được (tính theo phần trăm) Lượng chất cần phân tích so với lượng chất chuẩn đưa vào đối tượng phân tích khi tiến hành nghiên cứu xây dựng phương pháp.

4. Nguyên tắc

2.4 D trong đất được chiết soxhlet bằng dung môi axeton. Thuỷ phân dịch chiết bằng kiềm. Axit hoá dung dịch thuỷ phân để chuyển về dạng axit. Chiết dạng axit sang pha hữu cơ. Làm sạch pha hữu cơ bằng cột sắc kí chứa silicagen, natri sunphat. Xác định hàm lượng 2.4- D bằng sắc kí lỏng hiệu suất cao dùng detector cực tím.

Phương pháp này dùng để phân tích dư lượng hoá chất trừ cỏ thuộc nhóm phenoxyaxetic như 2.4 D (bao gồm 2.4 -D dạng muối natri, dạng este, dạng amin...) MCPA, 2, 4, 5-T... trong đất.

5. Thuốc thử

- Axeton loại tinh khiết;
- Etyl axetat loại tinh khiết;
- Metanol loại tinh khiết dung cho sắc kí;
- Natri sunphat loại tinh khiết phân tích;
- Axit sunfuric loại tinh khiết phân tích, nồng độ loại 18 N;
- Kali hidroxit loại tinh khiết phân tích;
- 2.4-D chuẩn (99%)
- Nước cất 2 lần.

6. Thiết bị, dụng cụ

Các dụng cụ thông thường trong phòng thí nghiệm và các thiết bị dụng cụ sau:

- Bộ chiết Soxhlet loại 150 ml.

- Bình cầu nút mài loại 100, 250 ml.
- Phễu chiết loại 100 ml.
- Màng siêu lọc kích thước lỗ 0.45 m m.
- Máy dung siêu âm.
- Máy chưng cất quay.
- Hệ thống sắc kí lỏng có vòng bơm mẫu 20m l, trang bị detector cực tím.
- Rây kích thước lỗ 2 mm.

7. Lấy mẫu

Mẫu đất được lấy theo TCVN 5297 :1995.

Cần xác định thêm thành phần cơ lí, hoá học của đất để có cơ sở nhận định bổ sung về tình trạng diễn biến, khả năng lưu giữ và lan truyền chất ô nhiễm.

8. Tiến hành thử

8.1 Xây dựng đường chuẩn

Pha dãy dung dịch hiệu chuẩn có nồng độ 0.5; 1.0; 2.0; 5.0; 8.0; và 10 m g/ml 2.4-D trong metanol. Bơm chính xác 20 m l mỗi dung dịch trên vào hệ thống sắc kí lỏng ở điều kiện phân tích như điều 8.4 của tiêu chuẩn này để xây dựng đường chuẩn và xác định giới hạn phát hiện của máy.

8.2 Chiết tách

Rây mẫu đất qua rây có kích thước lỗ 2 mm để loại bỏ các tạp chất cơ học. Cân 25 g đất vào túi đựng mẫu và đặt vào ống Soxhlet. Cho 100 ml dung môi axeton vào bình cầu loại 250 ml. Lắp bình cầu vào bộ chiết Soxhlet. Lắp bình cầu vào máy chưng cất quay. Làm bay hơi dung môi ở 40°C trong máy chưng cất quay với áp suất giảm đến cạn. Tháo bình cầu, cho thêm 50 ml nước cất, 3 g KOH và một ít hạt sỏi. Đun hồi lưu trong 2 giờ trên bếp cách thuỷ. Để nguội đến nhiệt độ phòng và chuyển vào phễu chiết loại 100 ml. Thêm 25 ml axit sunfuric 18 N, lắc 2 phút, để yên 10 phút. Chiết 2.4-D sang pha pha hữu cơ bằng etyl axetat, lần thứ nhất sử dụng 20 ml, hai lần sau mỗi lần 10 ml. Tập hợp pha hữu cơ và cho chảy qua phễu lọc có chứa 10 g natri sunphat khan. Rửa lớp natri sunphat 2 lần, mỗi lần bằng 10 ml etyl axetat tinh khiết. Tập hợp toàn bộ pha hữu cơ vào bình cầu loại 100 ml. Lắp bình cầu vào máy chưng cất quay, cho bay hơi dung môi ở 60°C, áp suất giảm xuống còn khoảng 5 ml.

TCVN 6134:1996

8.3 Làm sạch

Lót một ít bông thấm nước vào đáy cột sắc kí bằng thuỷ tinh đường kính trong 1.2 cm. Chuyển 5g natri sunphat vào cột. Cho tiếp 5g silicagen hoạt hoá loại dùng cho sắc kí có kích thước hạt 60 mesh (0.250 mm). Cho tiếp 5g natri sunphat khan. Gõ nhẹ cột để lèn chặt các chất nhồi. Đặt một lớp bông thấm nước lên mặt cột. Tẩm ướt cột bằng 10 ml dung môi axeton có thành phần tỉ lệ 1: 9 (v/v). Hứng dung dịch chảy qua cột vào bình cầu có nút mài loại 100 ml. Lắp bình cầu vào máy chưng cất quay. Làm bay hơi dung môi dưới áp suất giảm ở nhiệt độ 40°C còn khoảng 10 ml. Chuyển dung dịch còn lại vào bình quả lê loại 25 ml. Lắp bình quả lê vào máy chưng cất quay, tiếp tục làm bay hơi đến còn khoảng 1 ml ở điều kiện trên. Tháo bình quả lê ra khỏi máy chưng cất quay. Tiếp tục làm bay hơi ngoài không khí đến dung môi bằng dòng khí khô.

8.4 Phân tích

Hoà tan cặn trong bình quả lê bằng 0.5 ml metanol. Lọc dịch chiết qua màng siêu lọc. Thu dịch lọc, bơm đủ 20 ml vào máy sắc kí lỏng ở điều kiện phân tích như sau:

Cột pha đảo chứa chất nhồi C-18, kích thước 150 x 4.6 mm.

Pha động: metanol-nước axit axetic 55.0-44.5-0.5 (v/v) được đuổi hết bọt khí bằng máy dung siêu âm.

Bước sóng phân tích: 230 nm.

Tốc độ dòng: 1.0 ml/phút.

9. Biểu thị kết quả

9.1 Tính toán

Dựa vào thời gian lưu (t_R) của chuẩn và mẫu để nhận biết 2.4-D và từ diện tích hoặc chiều cao pic, tính toán nồng độ 2.4-D có trong đất theo công thức sau:

$$N = \frac{A_m}{A_c} \times \frac{C_c}{m} \times V$$

trong đó:

N là nồng độ 2.4-D trong đất, tính bằng $\mu\text{g/g}$;

A_m là diện tích hoặc chiều cao pic mẫu, tính bằng milimet vuông hoặc milimet;

A_c là diện tích hoặc chiều cao pic chuẩn, tính bằng milimet vuông hoặc milimet;

C_0 là nồng độ dung dịch chuẩn, tính bằng microgam trên microlit;

m là khối lượng mẫu dùng để chiết suất, tính bằng gam;

V là thể tích dung dịch mẫu dùng để phân tích, tính bằng mililit.

9.2 Độ chính xác

Độ chính xác của phương pháp như sau:

Giới hạn phát hiện của máy ở điều kiện phân tích đã nêu: 0.5 mg/ml.

Giới hạn xác định của phương pháp: 0,01 mg/ml.

Độ phát hiện : 90 - 96%.

Độ lệch chuẩn s ($n = 5$) = 7.6% ở mức 0.1 mg/ml và 6.0% ở mức 1 mg/ml.

10. Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải bao gồm các thông tin sau:

- a) tham khảo tiêu chuẩn này;
 - b) đặc điểm nhận dạng xuất xứ của mẫu đất;
 - c) tính chất riêng của mẫu đất (sự có mặt của sét, cát, sỏi, cỏ, rác vụn ...);
 - d) kết quả xác định dư lượng 2,4-D;
 - e) các yếu tố tự chọn và những yếu tố khác có thể ảnh hưởng đến kết quả.
-