



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

DƯ LƯỢNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG THÓC GẠO VÀ ĐẬU TƯƠNG

PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG THUỐC γ - BHC
VÀ METHYL PARATHION

TCVN 4718 - 89 ÷ TCVN 4719 - 89

HÀ NỘI - 1989

Cơ quan biên soạn :

Cục Bảo vệ thực vật — Bộ nông nghiệp
và Công nghiệp thực phẩm

Thủ trưởng cơ quan : Phó tiến sĩ Bùi Văn Ích — Cục trưởng

Cán bộ biên soạn : Kỹ sư Phan Mai

Cơ quan đề nghị ban hành :

Bộ nông nghiệp và Công nghiệp thực phẩm
Bộ trưởng Nguyễn Công Tấn

Cơ quan trình duyệt :

Tổng cục Tiêu chuẩn — Đo lường — Chất lượng

Tổng cục Phó : Hoàng Mạnh Tuấn

Cơ quan xét duyệt và ban hành :

Ủy ban Khoa học và Kỹ thuật Nhà nước

Phó chủ nhiệm : Phó tiến sĩ Đoàn Phương

Quyết định ban hành số 259/QĐ ngày 20 tháng 5 năm 1989.



**THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG
THÓC GẠO VÀ ĐẬU TƯƠNG**

Phương pháp xác định dư lượng γ - BHC

Остаток пестицидов
Метод определения
остатка γ - БХК
в рисовых соевых

Residue of pesticide
Method for determi-
nation of γ -BHC residue
in rice and soybean

TCVN
4718 - 89

Có hiệu lực
từ 1-1-1990

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định dư lượng γ - BHC trong hạt thóc gạo và hạt đậu tương bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (SKIM).

1. Lấy mẫu: Theo TCVN 1700 - 86.

2. Dụng cụ và hóa chất:

2.1. Dụng cụ:

- Cân phân tích;
- Máy nghiền;
- Máy chưng cất quay;
- Máy bơm hút chân không;
- Bình tam giác nút mài 300, 500 ml;
- Bình tròn 250, 500 ml;
- Bình quả lê 25 ml;
- Bình hút ẩm;
- Bình định mức 100 ml;
- Cốc thủy tinh 100, 250 ml;
- Ống đong 10, 50, 100 ml;
- Phễu con;
- Phễu Buchner;
- Cột sắc ký 400 x 20 mm;
- Miếng kính 20 x 20 cm;
- Tủ sấy;
- Microseranh 5 μ l, 10 μ l, 50 μ l;

- Dụng cụ tráng lớp mỏng;
- Dụng cụ hút chân không;
- Dụng cụ phun lớp mỏng;
- Đèn cực tím (UV);
- Đũa thủy tinh;
- Bông thấm nước;
- Pipet 0,5, 1 ml;
- công-tơ-hút;

2.2. Hóa chất:

- Chuẩn γ - BHC;
- n - hexan TKPT;
- Axetonitril TKPT
- Ête dầu hỏa TKPT;
- Florisil hoạt hóa 130° C trong 8 giờ;
- Natri sunfat khan PT;
- Silicagel G 60;
- Kẽm chlorua PT;
- Diphenyl amin PT;
- Axeton TKPT;

3. Phương pháp xác định:

3.1. Chuẩn bị mẫu:

3.1.1. Hạt gạo, thóc

3.1.1.1. Xử lý mẫu và chiết xuất:

Cân 50 gam mẫu đã nghiền nhỏ và rây qua cỡ rây 1,25 mm rồi cho vào bình tam giác có dung tích 500 ml, cho tiếp vào bình 100 ml n-hexan đặt vào máy lắc 1 giờ, sau đó để yên 5 giờ cho thuốc trừ sâu tan hết vào dung môi. Lọc bằng phễu Buchner có lót giấy lọc qua hút chân không. Tráng bình và phễu với 50 ml n-hexan. Dịch lọc đem chưng cất bằng máy cất quay trên cách thủy 40 - 50°C cho tới khi còn khoảng 5 - 10 ml.

3.1.1.2. Tinh chế:

Dùng 1 cột thủy tinh 400 × 20 mm phía dưới có khóa đóng mở. Sau khi rửa sạch bằng xà phòng, tráng 2 lần nước cất, sấy khô. Dùng kẹp lắp lên giá cho cột thẳng đứng, khóa

ở phía dưới được vận đóng lại, lấy một nhúm bông (loại thấm nước) lót ở đáy cột rồi nhồi vào 10g Florisil. Rửa cột với 50 ml ête dầu hỏa. Mở khóa cho chảy ra và loại bỏ 30 ml. Phủ 1 lớp Natri sunfat khan 2cm lên trên Florisil. Hòa tan cặn chiết xuất với 10ml ête dầu hỏa để lấy hết cặn vào cột, tráng bình chứa với 10 ml ête dầu hỏa đổ vào cột cho thật hết cặn. Rửa giải bằng 200 ml hỗn hợp dung môi (ête dầu hỏa chứa 6 % ête êtylic). Điều chỉnh khóa để tốc độ chảy khoảng 3 - 4 ml trong 1 phút. Dịch tinh chế đem chưng cất quay đến khi còn 1 - 2 ml thì chuyển sang bình quả lê, tráng lấy hết cặn bằng 3 - 5 ml hỗn hợp dung môi trên. Đặt bình quả lê trong bình hút khí hoặc bốc hơi nhẹ bằng máy cất quay đến dung môi. Cặn thu được sẽ xác định dư lượng thuốc trừ sâu bằng sắc ký lớp mỏng (SKLM). Nếu chưa phân tích ngay cần đậy kín và đậy kín và để nơi mát mẻ hoặc trong tủ lạnh.

3.1.2. Hạt đậu tương :

3.1.2.1. Chiết xuất :

Theo mục 3.1.1.1. nhưng thay n-hexan bằng axetonitril.

3.1.2.2. Tinh chế :

Theo mục 3.1.1.2.

3.2. Chuẩn bị bản mỏng :

Dùng các tấm kính 20×20 cm rửa sạch bằng xà phòng, tráng 2 lần bằng nước cất, đặt lên giá cho khô.

Cân 30 g Silicagel G 60 cho vào bình tam giác cỡ 300 ml thêm 70 ml nước cất lắc đều 2 phút rồi đổ vào bề chứa của dụng cụ tráng lớp mỏng đã điều chỉnh để khi tráng lên 5 tấm kính 20×20 cm sẽ đạt bề dày của lớp silicagel 0,25 mm. Sau khi tráng xong, đặt các bản mỏng ở vị trí thật cân bằng ở nhiệt độ thường cho đến khô mới cho vào tủ sấy. Khi tủ sấy đạt đến 110°C thì sấy tiếp 1 giờ ở nhiệt độ đó. Khi các bản mỏng vừa nguội thì được xếp vào giá trong bình hút ẩm để dùng dần.

3.3. Chuẩn bị các dung dịch :

3.3.1. Dung dịch phát hiện :

A : Là dung dịch 20 % diphenylamin trong axeton.

B ; Là dung dịch 10 % kẽm chlorua trong axeton.

Trước khi phun đem trộn 1 thể tích A với 2 thể tích B. Dung dịch này chỉ pha khi sử dụng, không được để sang ngày hôm sau.

3.3.2. Dung dịch khai triển sắc ký :

Lấy 50 ml n-hexan cho vào bình sắc ký và đậy nắp kín.

3.3.3. Dung dịch chuẩn :

Cân chính xác 20 mg chất chuẩn γ - BHC cho vào bình định mức 100 ml hòa tan bằng axêton sau đó cho thêm axêton cho đến gần bình định mức 100 ml. Đậy nút kín, lắc đều. Bảo quản trong tủ lạnh, giá trị sử dụng trong 1 tháng.

3.4. Tiến hành sắc ký :

Lấy 1 bản mỏng đã chuẩn bị ở trên, cạo lớp silicagel ở 2 mép bên cạnh 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 cm và cách 2 mép bên từ 1,2 - 1,5 cm). Một bản mỏng như vậy có thể chấm được từ 6 - 8 chấm.

Lấy chính xác 0,5 ml axeton cho vào căn mẫu thử (3.1.1.2) hoặc (3.1.2.2), đậy nút kín, lắc đều cho tan căn và tập trung xuống đáy bình quả lê. Dùng ống mao quản chính xác hoặc microxyranh hút mẫu thử và chấm lên lớp mỏng ở 2 vị trí đã định, vết thứ nhất chấm 20 microlit (μ l). Vết thứ 2 chấm 30 μ l. Các vị trí khác chấm dung dịch chuẩn với thể tích tăng dần từ 2,5-5-10-15-20-25 μ l (tương ứng với 0,5-1-2-3-4-5 μ g «micro gam» chất chuẩn γ - BHC/vết). Khi chấm phải khống chế đường kính của vết không quá 3 mm. Khi chấm xong, đặt mép dưới bản mỏng vào dung môi trong bình sắc ký đậy nắp có bôi sẵn vaselin để bảo đảm thật kín.

Khi dung môi ngấm lên còn cách mép trên khoảng 2 cm thì lấy bản mỏng ra, đánh dấu ngay đỉnh dung môi rồi đặt vào tủ hút 30 phút cho bay hết dung môi. Lấy dung dịch phát hiện (3.3.1) phun đều trên mặt lớp mỏng (tầm ướt) rồi đặt bản mỏng dưới đèn tử ngoại 15 phút. Chất trừ sâu γ - BHC cho vết màu xanh xám trên nền trắng.

Bằng cách so sánh trực tiếp giữa các vết của mẫu thử và mẫu chuẩn ta rút ra lượng γ - BHC là bao nhiêu microgam/vết và từ đó tính toán dư lượng thuốc trừ sâu trong sản phẩm.

Chú ý: Nếu các vết của mẫu thử nằm trong khoảng thang chuẩn thì ta rút ra được kết quả ngay.

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

Nếu 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. Cónghĩa là ta phải tạo được các vết của mẫu thử có hàm lượng nằm trong khoảng giới hạn của thang chuẩn.

4. Tính kết quả:

Dư lượng thuốc trừ sâu trong sản phẩm (nếu có) được tính theo công thức sau đây:

$$\text{Lượng thuốc trừ sâu tính theo ppm} = \frac{A}{B}$$

A: Chất trừ sâu tìm thấy trên vết sắc ký tính theo microgam (μg).

B: Số gam nông phẩm tương ứng với thể tích dịch chiết đã chấm lên 1 vết SKLM được chọn để rút ra kết quả.

Trị số Rf: 0,35

Giới hạn phát hiện: 0,5 microgam (μg).