

XÁC ĐỊNH LAMBDA CYHALOTHRIN TRONG RAU PÓ XÔI BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÍ KHÍ SỬ DỤNG ĐẦU DÒ CỘNG KẾT ĐIỆN TỬ

Đến tòa soạn 15 - 9 - 2008

Lê Tất Mua, Nguyễn Tiến Đạt, Nguyễn Ngọc Tuấn,

Tạ Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Thị Hồng Thắm

Phòng thí nghiệm Hoá Lý, Trung tâm phân tích, Viện nghiên cứu hạt nhân

SUMMARY

DETERMINATION OF LAMBDA CYHALOTHRIN IN SPINACH BY GAS CHROMATOGRAPHY USING ELECTRON CAPTURE DETECTOR

Lambdacyhalothrin is one of stereoisomers of Cyhalothrin. It is widely used in agricultural purposes. Especially in crops. The procedure for analysing cyhalothrin residue in vegetable as spinach is based on extraction of residue with organic solvent, clean-up of the extract by solvent-solvent partition and adsorption column chromatography, determination of the residue using gas chromatography (GC) with electron capture detector (GC/ECD). The LOD, LOQ is 6.25 ppb and 10 ppb respectively, Recovery is 97.6% with repeatability of the procedure for almost matrix is more than 95%.

The methods have been found to be applicable to the determination of Lambdacyhalothrin in a wide variety of crops by the GC determination.

I. GIỚI THIỆU

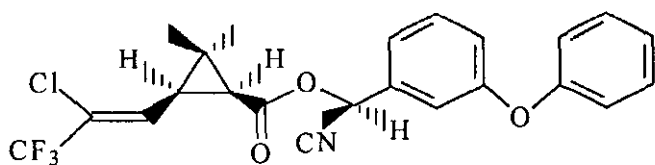
Lambda Cyhalothrin là một chất rắn màu be, ở dạng kĩ thuật có nồng độ lớn hơn 90% hoạt chất. Là dạng đồng phân của hai chất đối quang (Z), (1R,3R), S-ester và (Z), (1S,3S), R-ester theo tỉ lệ 1:1. Lambda Cyhalothrin tan có hạn trong nước và tan tốt trong dung môi hữu cơ. Cả hai Lambda Cyhalothrin và Cyhalothrin nhanh chóng bị thủy phân trong môi trường kiềm nhưng không thủy phân trong môi trường trung tính và môi trường axit.

Trong nông nghiệp nó được sử dụng làm thuốc trừ sâu, tốc độ phân huỷ dưới tác dụng ánh sáng chậm (bán rã 30 ngày).

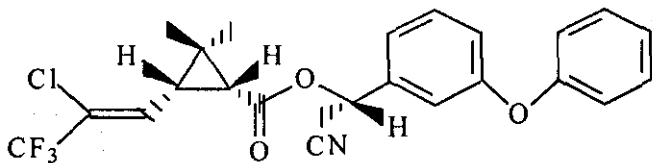
Trong công trình này, chúng tôi giới thiệu phương pháp xác định Lambda Cyhalothrin trong các loại rau có lượng nước nhiều như rau pò xôi, Lambda Cyhalothrin được chiết vào hỗn hợp dung môi aceton- n-hexan 1:4 (v/v), dịch chiết được làm sạch trên florisisil và giải hấp dư lượng Lambda Cyhalothrin bằng hỗn hợp dung môi diethyl ether và n-hexan. Định lượng Lambda Cyhalothrin bằng kĩ thuật GC/ECD, cột mao quản SPB™-1. Với các thông số của GC: Nhiệt độ cột 80°C, chương trình hóa nhiệt độ cột tách đến 230°C, nhiệt độ Detector 300°C, nhiệt độ Injector 230°C. Việc tách loại các đồng phân quang học đối quang là một vấn đề rất phức tạp

và khó khăn. Do đó trên phổ đồ sắc kí cặp đồng phân Enantiomeric A sẽ cho một peak sắc kí và tương ứng với cặp đồng phân Enantiomeric B sẽ

cho một pic sắc kí khác. Hai Enantiomeric này sẽ được tách biệt nhờ vào việc sử dụng chương trình hóa nhiệt độ cột tách.

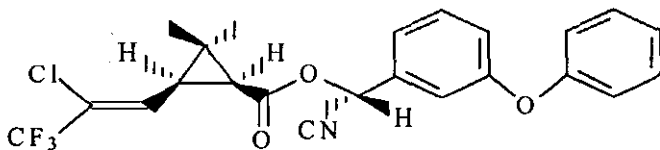


(Z) - (1S) - cis S alpha . cyano

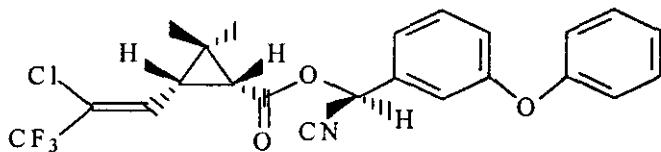


(Z) - (1R) - cis R alpha . cyano

Cặp Enantiomeric A



(Z) - (1S) - cis R alpha . cyano



(Z) - (1R) - cis S alpha . cyano

Cặp Enantiomeric B

II. THỰC NGHIỆM

II.1. Thiết bị, dụng cụ và hóa chất

Máy sắc kí khí GC 17A V3, Nhật.

Máy li tâm ROTA 4R - V/FM, Ấn Độ.

Máy lắc phễu chiết GFL, Đức.

Máy cô quay chân không RotarVapo, Thụy sĩ.

Cột mao quản, Fused Silica Column SPB™ -1, chiều dài l = 30m, Đường kính trong ID = 0.32mm, bề dày lớp pha tĩnh 0.25µm.

Dụng cụ thủy tinh các loại.

n-hexan, tinh khiết phân tích, được chưng cất lại trước khi phân tích.

Axeton, tinh khiết phân tích, được chưng cất lại trước khi phân tích.

Dietyl ete, tinh khiết phân tích, được chưng cất lại trước khi phân tích.

Etyl Axetat, tinh khiết phân tích, được chưng cất lại trước khi phân tích.

Hỗn hợp dung môi axeton: n-hexan = 2 : 8 (v/v)

Hỗn hợp dung môi dietyl ete: n-hexan = 3:7 (v/v)

Hỗn hợp dung môi dietyl ete: n-hexan = 7:3 (v/v)

Florisil, 60 - 100 mesh, sấy ở 300°C trong 4 giờ, giảm hoạt tính với 5% nước.

Na₂SO₄, tinh khiết phân tích, được sấy ở 200⁰C qua đêm.

NaCl tinh khiết phân tích.

II.2. Qui trình phân tích

a) Chuẩn bị và xử lý mẫu.

Mẫu ban đầu (khoảng 1kg), loại bỏ các tạp chất như đất, đá, sâu bọ và phần già úa hay thối rữa. Cắt mẫu bằng dao inoc thật mịn đến kích thước khoảng 5mm x 5mm, trộn đều và lấy trên hai nửa đường chéo của hình chữ nhật. Tiếp tục giảm kích thước mẫu đến khi ước lượng được một lượng khoảng trên 50g. Tiếp tục dùng dao inox cắt mịn nữa và cuối cùng cân chính xác 50g rau, cho vào bình tam giác 250ml có nút nhám.

b) Chiết hoạt chất Lambda Cyhalothrin từ nền mẫu.

Ngâm chiết 50g rau trong bình tam giác 250ml có nút nhám với 80ml hỗn hợp dung môi axeton- n-hexan 1:4 (v/v), lắc trên máy lắc với tốc độ 250 vòng/ phút trong thời gian 60 phút. Gạn

II.3. Điều kiện phân tích, thời gian lưu

a) Điều kiện phân tích

Bảng 1. Các thông số làm việc của máy sắc kí khí GC 17 A V3

Máy Sắc kí khí	GC 17A V3, Nhật.
Cột mao quản	SPB TM - 1, l = 30m, ID = 0.32mm.
Nhiệt độ cột	Chương trình nhiệt độ cột tách: 80 ⁰ C đến 230 ⁰ C.
Lưu tốc khí mang	1.9 ml/phút
Kỹ thuật tiêm	Tiêm đẩy dung môi.
Detector	Detector cộng kết điện tử (ECD, ⁶³ Ni), 300 ⁰ C
Nhiệt độ Injector	230 ⁰ C
Thể tích tiêm	1µl
Chuẩn Lambdacylhalothrin	Chuẩn của hãng Wako pure chemical industries, Ltd. (Nhật), hàm lượng 99.0%.

b) Thời gian lưu

Lambdacylhalothrin trong điều kiện phân tích như đã nêu có hai pic kế cận là TR(1) : 16.144 min TR(2) : 16.741 min

lọc phần dung dịch qua giấy lọc. Phần bã tiếp tục được ngâm chiết hai lần nữa, mỗi lần với 40ml hỗn hợp dung môi axeton- n-hexan 1:4 (v/v). Gộp tất cả dịch lọc lại, định mức 150ml bằng hỗn hợp dung môi axeton- n-hexan 1:4 (v/v). Lấy 15ml lọc qua phễu thủy tinh đựng Na₂SO₄ khan, rửa Na₂SO₄ với 30ml axeton. Gộp tất cả dịch lại đem cô quay chân không đến còn khoảng 5ml ở nhiệt độ 30⁰C.

c) Làm sạch bằng sắc kí cột.

Cân 15g Florisil, nhồi vào cột sắc kí có đường kính 15mm, dài 45cm, phủ bên trên lớp Florisil một lớp Na₂SO₄ khoảng 2cm. Chuyển định lượng phần dung dịch được cô quay ở phần b vào cột. Giải hấp với 50ml hỗn hợp n-hexan: dietyl ete = 7:3 (v/v), bỏ tất cả dịch giải hấp này, kế tiếp giải hấp Lambda Cyhalothrin với 30ml hỗn hợp n-hexan: dietyl ete = 3:7 (v/v). Thu dịch giải hấp này và dùng dòng khí nitơ để đuổi dung môi đến gần khô. Hòa tan bằng Etyl Axetat và định mức 10ml bằng Etyl Axetate.

II.4. LOD, LOQ, Recovery và đường chuẩn

Giới hạn phát hiện - LOD

Lấy một thể tích chuẩn Lambda Cyhalothrin có nồng độ 6.25µg/ml trong n-hexan đem sắc kí,

ghi kết quả theo chiều cao hoặc diện tích pic. Lần lượt pha loãng dung dịch chuẩn trên thành 1/2, rồi 1/10 sau đó đem sắc kí các dung dịch, ghi kết quả.

Bảng 2. Giới hạn phát hiện của Lambdacyhalothrin

Hoạt chất	LOD (ng/ml)
Lamdacyhalothrin	6.25

Giới hạn định lượng - LOQ

LOQ được tính với 50g rau, chiết tách, làm giàu, làm sạch và định mức thể tích cuối 10ml trước khi bơm vào máy sắc kí khí.

Bảng 3. Giới hạn định lượng của Lambdacyhalothrin

Hoạt chất	LOQ (ng/g)
Lamdacyhalothrin	10

Phần trăm thu hồi - %Recovery

Thêm 1mL dung dịch 62.5 µg/ml vào 50g rau pó xôi đã kiểm tra không thấy xuất hiện pic đặc trưng, thêm axeton, lắc, lọc và định mức 50mL bằng axeton. Lấy 15mL để phân tích tách chiết, làm sạch. Định mức thể tích cuối 10mL trong etyl axetat.

Chuẩn: pha loãng dung dịch gốc 6.25µg/ml 10 lần.

Bảng 4. Phần trăm thu hồi Lambdacyhalothrin

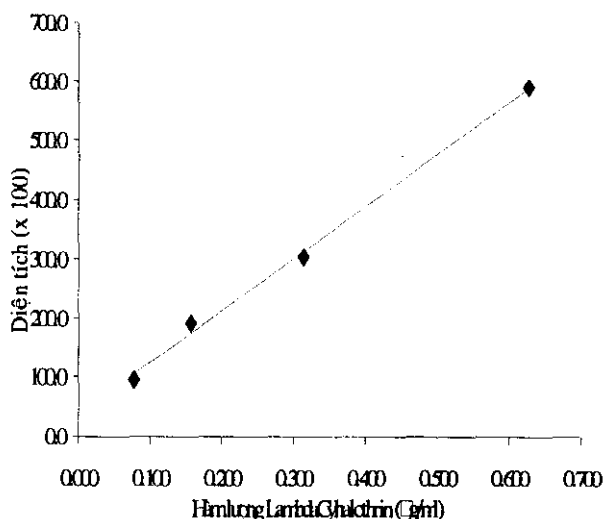
Mẫu	Nồng độ	Diện tích	Chiều cao	A	H
Chuẩn	0.625	467822	51198	0.625	0.625
Mẫu thử	0.625	456621	52577	0.610	0.60
Recovery				97.6%	96%

Đường chuẩn của Lambdacyhalothrin

Tiến hành pha dãy nồng độ chuẩn của Lambdacyhalothrin, sau đó tiến hành chạy sắc kí và ghi kết quả.

Bảng 5. Dãy nồng độ của Lambdacyhalothrin và diện tích tương ứng

Nồng độ (µg/ml)	Diện tích x 10 ³
0.078	95.2
0.156	192.0
0.313	304.1
0.625	591.9



Hình 1. Đồ thị chuẩn của Lambdacyhalothrin

Phương trình tuyến tính thu được với các hệ số $a = 8.881$ và $b = 0.3557$. Hệ số tương quan $r^2 = 0.9964$.

II.5. Đánh giá độ chính xác của phương pháp

Để kiểm tra độ chính xác của phương pháp trong công trình này chúng tôi sử dụng phương pháp phân tích phương sai để so sánh và dùng chuẩn student cho phép so sánh này. Việc kiểm tra độ đúng của phương pháp được thực hiện bằng cách thêm một lượng chính xác Lambdacyhalothrin vào 6 bình tam giác 250ml, mỗi bình chứa một lượng chính xác 50g của cùng một mẫu rau pó xôi, đã kiểm tra không thấy xuất hiện các peak đặc trưng của Lambdacyhalothrin. Trộn đều hỗn hợp mẫu và bỏ vào tủ lạnh qua đêm. Tiến hành làm tuần tự các bước như qui trình phân tích ở trên. Kết quả được dẫn ra ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả xác định độ chính xác của phương pháp

Hoạt chất	Thêm vào ($\mu\text{g/g}$)	Lượng tìm thấy ($\mu\text{g/g}$)						
		Xây dựng	X2	X3	X4	X5	X6	X _{tb}
λ Cyhalothrin	0.615	0.554	0.572	0.578	0.437	0.597	0.590	0.555

Bảng 7. Kết quả tính toán các đại lượng thống kê

Hoạt chất	Trung bình ($\mu\text{g/g}$)	Độ lệch chuẩn	t _{thực nghiệm}	T _{5,0.95}
λ Cyhalothrin	0.555	0.05968	2.48	2.57

Từ kết quả ở bảng 7, có thể thấy rằng giá trị trung bình thu được từ tập số liệu ở bảng 6 so với giá trị thêm vào là không khác nhau bao nhiêu về ý nghĩa thống kê. Độ đúng của phương pháp có thể coi như là đạt yêu cầu.

III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Với chương trình nhiệt độ, lưu tốc khí mang khảo sát và việc lựa chọn cột mao quản SPBTM-1, đã cho thấy khả năng tách cặp đồng phân đối quang của Cyhalothrin thành 2 pic riêng biệt (thời gian lưu tương ứng của hai pic là 16.114 phút và 16.741 phút).

Tỷ lệ hỗn hợp dung môi axeton- n-hexan 1:4 (v/v) thích hợp để chiết Cyhalothrin ra khỏi nền mẫu. Với nền mẫu rau pó xôi khảo sát, hiệu suất chiết khi sử dụng hỗn hợp dung môi này đạt được từ 98.4 – 98.8%.

Việc sử dụng tác nhân làm sạch Florisil trong làm sạch dịch trích là khá phù hợp. Có lẽ do sự kết hợp giữa magie và silic trong cấu trúc của florisil mà đã làm tăng khả năng làm sạch của florisil. Dịch chiết sau khi đi qua cột chứa florisil, gần như đã loại bỏ được hoàn toàn các sắc tố màu thực vật. Thêm vào đó là việc lựa chọn được tỷ lệ hỗn hợp dung môi n-hexan: dietyl ete = 7:3 (v/v) và n-hexan: dietyl ete = 3:7 (v/v) để giải hấp Cyhalothrin và tách khỏi những chất đồng chiết khác mà gây ra cản nhiễu trên sắc kí đồ, với hiệu suất thu hồi đạt được từ 97.4 – 97.7%.

Giới hạn định lượng của phương pháp xác định Cyhalohrin trong rau pó xôi là 10ng/g, ứng với lượng chuẩn Cyhalothrin thêm vào 5 – 20ng/g.

Ứng dụng các kết quả nghiên cứu trên vào kiểm nghiệm dư lượng LambdaCyhalothrin trong mẫu rau ăn lá (pó xôi) và rau ăn quả (đậu Hà Lan) thu thập tại các hợp tác xã trồng rau trên địa bàn Đà Lạt. Vì số lượng mẫu kiểm nghiệm nhiều (hàng trăm mẫu) và hàng ngày nên chúng tôi không trình bày hàm lượng cụ thể của một mẫu tiêu biểu nào, mà trình bày kết quả dưới dạng thống kê % số mẫu không phát hiện, phát hiện và vượt mức cho phép MRL_s dư lượng TBVTV Lambdacylhalothrin trong rau pó xôi và đậu Hà Lan như dưới đây:

Bảng 8.: Biểu diễn % phát hiện dư lượng TBVTV Lambdacylhalothrin trong mẫu rau ăn lá (rau Pó xôi) và rau ăn quả (đậu Hà Lan)

Loại rau	Số mẫu phân tích	% mẫu không phát hiện	% mẫu phát hiện	% mẫu vượt quá giới hạn cho phép MRL _s
Rau pó xôi	120	85.58	10.83	3.33
Đậu Hà Lan	15	73.3	20.0	6.66

Dựa theo tiêu chuẩn của Nhật Bản (Ministry of Health, Labour and Welfare/ Pharmaceutical and Food Safety Bureau) cho phép đối với hàm lượng Lambdacylhalothrin trong rau pó xôi là

MRL_s(Lambdacylhalothrin): 2.0 mg/kg (rau pó xôi)

MRL_s(Lambdacylhalothrin): 0.2mg/kg (đậu ăn quả)

Từ kết quả trên bảng 8 cho thấy: Thuốc KARATE 2.5 EC được sử dụng để diệt sâu trên các loại rau ăn lá và ăn quả như rau pó xôi, đậu Hà Lan của các hợp tác xã trồng rau trên địa bàn TP Đà Lạt. Tuy nhiên, tồn dư của chúng trên rau

pó xôi và đậu Hà Lan thu hoạch thì có đến 85,58% và 73.3% tương ứng các mẫu không phát hiện LambdaCyalothrin (KPH) và 10.83% và 20.0 % số mẫu phát hiện, nhưng ở mức cho phép chấp nhận được (MRL) của một số nước Châu Á đưa ra, chỉ có 3.33% số mẫu rau ăn lá và 6.66% số mẫu rau ăn quả vượt quá giới hạn cho phép. So với công bố của trung tâm kiểm định thuốc BVTV, cục bảo vệ thực vật phía Nam trong năm 2003, % mẫu phát hiện trong rau ăn lá là 34.6%, rau ăn quả 66.7% , % mẫu vượt RML_s là 16-20%. Kết quả phân tích của chúng tôi cho thấy nông dân trồng rau trên địa bàn Đà Lạt có xu hướng giảm rõ rệt việc sử dụng dư lượng TBVTV trong các loại rau, đảm bảo vệ sinh an toàn thực phẩm cho người tiêu dùng.

IV. KẾT LUẬN

Đã xây dựng thành công qui trình phân tích LambdaCyalothrin trong đối tượng rau ăn lá (pó xôi) và rau ăn quả (đậu Hà Lan) với LOD và LOQ tương ứng là 6.25ng/ml và 10ng/g. Recovery đạt được 98.72%.

Ứng dụng quy trình phân tích LambdaCyalothrin vào thực tiễn cho thấy: Quy trình có tính khả thi, áp dụng rộng rãi cho kết quả

chính xác (sai số $\pm 15\%$), độ nhạy (LOQ 10ng/g), thời gian phân tích thích hợp (8giờ/10mẫu/người), giá thành chấp nhận được.

Có thể áp dụng quy trình phân tích này cho các đối tượng rau ăn lá, củ và quả khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Văn Biên, Bùi Cách Tuyến, Nguyễn Mạnh Chinh. *Cẩm nang thuốc bảo vệ thực vật*. Nhà xuất bản Nông nghiệp. TP. Hồ Chí Minh (2000).
2. Hans – Peter Their and Hans Zeumer Working Group “Analysis”. *Manual of Pesticide Residue Analysis*. Volume I, II. VCH Publishers Inc., New York (USA) (1997, 1992).
3. IPCS Inchem (environment health criteria 99). World Health Organization. Geneva, 1990.
4. R.A. Chapman and C.R. Harris, *Extraction and liquid-solid chromatography cleanup procedures for the direct analysis of four pyrethroid insecticides in crops by gas liquid chromatography*, J.Chromatogr. 166, 513-51 (1978).

Tập thể công trình xin cam đoan công trình này được nghiên cứu và lần đầu tiên gửi đăng.

Nghiên cứu... (Tiếp theo tr. 46)

2. Tổng hợp thành công zeolit NaX từ gel silic hoạt động. Xác định cấu trúc zeolit NaX bằng phổ hồng ngoại thấy rằng xuất hiện pic 562cm^{-1} đặc trưng cho dao động biến dạng vòng 6 cạnh của zeolit NaX. Giản đồ nhiễu xạ Ronghen xuất hiện pic đặc trưng cho zeolit NaX, cho biết tỷ lệ $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3 = 2,4$. Các đặc trưng này khẳng định tổng hợp thành công zeolit NaX

3. Đã khảo sát khả năng hấp thu nước, khả năng trao đổi K^+ , khả năng hấp thu NPK theo thời gian. Các kết quả này cho thấy rằng zeolit NaX có khả năng dùng làm phụ gia cho phân bón nhằm cải tạo đất trồng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Hữu Yên, “*Phân bón và cách bón phân*”, NXB Nông Nghiệp, Hà Nội, (1995).

2. Tạ Ngọc Đôn, “*Nghiên cứu chuyển hoá cao lanh thành zeolit NaY – Ứng dụng làm xúc tác trong một số phản ứng hóa học*”, Tạp chí hoá học, T.42(1), Tr.21-25, (2004)
3. Jansen J. C, “*Introduction to zeolit science and practice*”, elsevier Science, Amsterdam, (1991).
4. W U Chao, “*Wetting agent investigation for controlling dust of lead-zinc ores*”. Trans. Nonferrous Met.Soc.China 17(2007) 159-167, (2007).
5. Meier W.M. and Olson D.H., *Atlas of zeolite structure types*, Butterworth Heinemann, (1992).
6. Olson, D.H. “*The crystal structure of dehydrated NaX*”, 15, 439-443 (1995).
7. Vaughan, D.E.W. E. Patent 0,351,461, (1989).