

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 1/9
---	----------------------------------	--

# XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT HỌ DITHIOCARBAMATE TRONG RAU QUẢ BẰNG SẮC KÝ KHÍ GHÉP KHỐI PHỔ (GC/MS)

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
NGÔ QUANG DUY KHANG	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

## THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	30/10/2017

**A. TỔNG QUAN**

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 2/9
---	----------------------------------	--

## I. Phạm vi áp dụng.

Phương pháp này được áp dụng để định lượng dư lượng thuốc bảo vệ thực vật họ Dithiocarbamate (DTCs) bằng GC/MS trong nền mẫu rau, củ, quả như rau ăn quả (dưa leo, cà chua, ớt, bầu, bí, đậu bắp, mướp..); rau ăn lá (cải xanh, cần tây, rau dền, mồng tơi, xà lách, rau muống, rau ngót..), trái cây (thanh long, chanh dây, chuối, táo, lê, mận, đu đủ, dưa hấu...), rau ăn củ (cà rốt, củ cải đường, tỏi,...),...

Giới hạn phát hiện của phương pháp từ 5 µg/kg. Giới hạn định lượng của phương pháp là 15 µg/kg.

## II. Tài liệu tham khảo.

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo:

[1] Analysis of Dithiocarbamate Residues in Foods of Plant Origin involving Cleavage into Carbon Disulfide, Partitioning into Isooctane and Determinative Analysis by GC-ECD; Version 2, Document History in page 11; Community Reference Laboratory for Single Residue Method; CVUA Stuttgart, Schaflandstr. 3/2, 70736 Fellbach, Germany.

[2] Analysis of Dithiocarbamate Pesticide by GC-MS; Application Note 10333.

## III. Nguyên tắc.

DTCs được xác định gián tiếp thông qua carbon disulphide (CS<sub>2</sub>), sinh ra khi DTCs phản ứng với SnCl<sub>2</sub>: HCl=1:1<sup>[2]</sup>. CS<sub>2</sub> được hấp thụ vào dung môi isooctan<sup>[1]</sup>. Tiến hành phân tích CS<sub>2</sub> bằng thiết bị GC/MS

## VI. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 3/9
---	--	--

- a. Tuân thủ các nguyên tắc hoạt động trong phòng thí nghiệm.
- b. Báo cáo tất cả các vấn đề gây tổn thương tới con người và các sự cố gây đổ vỡ hóa chất.
- c. Dung môi hữu cơ isooctan, và các chất thải từ pha động chạy máy sau khi phân tích được thu hồi vào trong thùng chứa có dán nhãn và lưu giữ chúng như các chất thải độc hại.

## **B. PHÂN TÍCH**

### **I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.**

#### **1. Thiết bị cơ bản.**

- Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg.
- Bếp đun cách thủy.
- Micropipet các loại 20  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L.
- Ống thủy tinh có nắp kín 40-50mL.

#### **2. Thiết bị phân tích**

- Hệ thống GC/MS bao gồm máy sắc ký khí Hewlett Parkard(HP) 6890, đầu dò khối phổ HP 5973, và bộ tiêm mẫu tự động HP 6890 hoặc tương đương.
- Cột HP-5MS 30mx0.25mm x 0.25 $\mu$ mfilm hoặc tương đương.

### **II. Hoá chất và chất chuẩn.**

#### **1. Hoá chất.**

- Nước cất một lần và nước cất khử ion
- Dung môi Isooctane
- Thiếc (II) Chloride  $\text{SnCl}_2$
- Acid chlohydric đậm đặc (37%)
- Toluene

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 4/9
---	----------------------------------	---

- $\text{SnCl}_2$  0.16M/HCl 60% ( $\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}=6/4$ ): Cân 7.2 g  $\text{SnCl}_2$  hòa tan vào dung dịch 200ml HCl 60%, đun sôi dung dịch trong 5 phút để đảm bảo  $\text{SnCl}_2$  tan hoàn toàn. Chứa trong ống ly tâm 15mL để tiện sử dụng.

## 2. **Chất chuẩn.**

### **a. Chuẩn gốc:**

- Carbon disulfide ( $\text{CS}_2$ ) Dr. Ehrenstofer hoặc tương đương.
- Thiram 99.5% Dr. Ehrenstofer hoặc tương đương.
- Bảo quản và lưu trữ: Các chuẩn rắn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất.

### **b. Dung dịch chuẩn gốc**

- Dung dịch Thiram gốc khoảng 1000ppm pha trong dung môi Toluene: Cân khoảng 10 mg Thiram cho vào bình mức 10 mL, thêm 5 mL Toluene, vortex cho tan chuẩn, định mức tới vạch bằng Toluene. Lưu ý đến độ tinh khiết của chất chuẩn. Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

$$C(\text{mg/L}) = \frac{m(\text{mg}) \times 1000}{V(\text{ml})} \times P$$

Trong đó: C là nồng độ chất chuẩn có trong dung dịch (mg/L).

m là khối lượng cân của chất chuẩn (mg).

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

- Bảo quản và lưu trữ theo SANTE/11945/2015: Các dung dịch chuẩn gốc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ lạnh ( $-18^\circ\text{C}$ ), sử dụng trong thời gian 3 năm.

### **c. Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc**

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 5/9</p>
--	--	--

- Dung dịch chuẩn Thiram làm việc 10ppm trong Iso-octane: Rút 100 $\mu$ L dung dịch Thiram gốc 1000 ppm vào bình mức 10 mL, định mức tới vạch bằng isooctane.
- Dung dịch chuẩn CS<sub>2</sub> trung gian 1ppm trong Iso-octane: Rút 100 $\mu$ L chuẩn trung gian CS<sub>2</sub> 100 ppm vào bình định mức 10ml có sẵn 8-9 ml dung môi Isooctane, định mức tới vạch bằng isooctane.
- Bảo quản và lưu trữ theo SANTE/11945/2015: Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (8<sup>0</sup>C), sử dụng trong thời gian 1 năm.
- Pha dãy chuẩn CS<sub>2</sub> làm việc có nồng độ 10ppb, 30ppb, 60ppb, 120ppb, 240ppb, 480ppb.
- Bảo quản và lưu trữ: Dãy chuẩn làm việc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (8<sup>0</sup>C), sử dụng trong thời gian 1 tháng.

### III. Kiểm soát QA/QC.

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

- Mẫu Blank matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
- Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát: 0.06 mg/kg

**a. Mẫu Blank matrix:** Mẫu blank rau quả không phát hiện chất phân tích hoặc phát hiện ở nồng độ nhỏ hơn LOD

#### **b. Mẫu thêm chuẩn (QC)**

- Phân tích 01 mẫu thêm chuẩn với nồng độ thêm là 0.06 mg/kg sau khi phân tích 20 mẫu hoặc một mẻ mẫu. Mẫu thêm chuẩn được thực hiện cùng lúc với lô mẫu phân tích.
- Tính toán độ thu hồi theo phương trình

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 6/9
---	----------------------------------	--

$$R(\%) = \frac{C_s - C}{S} \times 100$$

Trong đó:

R = Độ thu hồi

C<sub>s</sub> = Nồng độ mẫu thêm chuẩn

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ chất phân tích thêm vào mẫu

#### **c. Mẫu lặp lại**

Mẫu lặp lại được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu từ 5-10 mẫu. Nếu lô mẫu ≤ 5 mẫu thì không thực hiện mẫu lặp lại. Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá ±20%.

### **IV. Xử lý mẫu.**

#### **1. Chuẩn bị mẫu:**

Theo “ Hướng dẫn công việc đồng nhất mẫu trong phòng thí nghiệm – HD.KT.022”

#### **2. Phương pháp tiến hành.**

Dư lượng DTCs thường phân bố trên bề mặt. Do đó, việc chia nhỏ mẫu (cắt, nghiền, mài) chỉ thực hiện khi cần lấy mẫu phụ (sub-sampling). Đối với các mẫu bao gồm các đơn vị nhỏ hoặc kích thước hạt như ngũ cốc, các loại hạt, đậu khô, nho khô, quả nhỏ việc chia nhỏ mẫu có thể bỏ qua miễn là phần mẫu được sử dụng để phân tích đủ lớn và các mẫu phụ chấp nhận được. Trong phương pháp này, khối lượng mẫu phân tích cần thiết là 50g. Đối với những mẫu có kích thước lớn như các loại trái cây, rau quả ( táo, dưa hấu, cà chua, rau diếp...) cần có một bước đồng nhất mẫu với máy nghiền để đảm bảo lấy mẫu phụ có tính đại diện.. Một số loại rau ( mùi tây) có thể tách các lá ra và trộn lên có thể trực tiếp phân tích mà không cần xử lý chia nhỏ. <sup>[1]</sup>

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 7/9
---	----------------------------------	--

Cân  $5 \pm 0.05$ g mẫu đã được đồng nhất vào ống thủy tinh.

Thêm chính xác 5.00 mL Iso-octane.

Lấy 15mL dung dịch  $\text{SnCl}_2$ : HCl cho vào ống thủy tinh.

Đậy nắp ngay lập tức, đun cách thủy trong 2 giờ ở  $80^\circ\text{C}$ , cứ 15-20phút lắc, đảo ống thủy tinh một lần.

Làm lạnh ống thủy tinh sau phản ứng xuống dưới  $20^\circ\text{C}$ , rút 0.5mL – 1 mL lớp Iso-octane vào vial, phân tích trên GC/MS.

## V. Phân tích

### 1. Điều kiện GC/MS

#### a. Điều kiện GC

- Cột HP-5MS 30mx0.25mm x 0.25 $\mu\text{m}$ film
- Injector:  $280^\circ\text{C}$  ; Pulsed Split 20:1 30psi @ 0.8 phút ; tiêm 2  $\mu\text{L}$
- Detector:  $280^\circ\text{C}$
- Chương trình nhiệt:
  - $80^\circ\text{C}$  lưu 1 phút
  - Tăng  $30^\circ\text{C}/\text{min}$  đến  $150^\circ\text{C}$  lưu 0 phút; Post run:  $250^\circ\text{C}$  @ 3phút.
  - Cân bằng cột 0.5 phút
  - Solvent delay: 0 phút
  - Detector off: 2 phút
  - Dòng Heli: 1.2 ml/phút (đẳng dòng)

#### b. Điều kiện MS

- Kiểu phân tích: SIM
- Chế độ ion hóa : EI
- Nhiệt độ đường truyền ion:  $280^\circ\text{C}$
- Tune file: ATUNE.U

Tên	m/z định	m/z định tính
-----	----------	---------------

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: 8/9
---	----------------------------------	--

chất	lượng		
CS <sub>2</sub>	76	7	4
		8	4

## 2. Trình tự của quá trình tiêm mẫu trên thiết bị phân tích.

Dung môi trắng → Các chuẩn có nồng độ từ thấp tới cao → Dung môi trắng →  
Mẫu cần kiểm nghiệm → Mẫu thêm chuẩn → Chuẩn kiểm tra.

## C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích của chuẩn với nồng độ chuẩn. Hàm lượng DTCs trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C = \left( \frac{C_0 \times V_{\text{extract}}}{m} \times f \right)$$

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, ng/g (µg/L)
- C<sub>0</sub>: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, ng/mL
- V<sub>extract</sub>: Thể tích dịch chiết
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân (g) hoặc thể tích mẫu (mL)
- Các thông số tính toán trong quá trình định trị phương pháp thử.

## D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- ✓ Độ thụ tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với  $R^2 \geq 0.99$
- ✓ Độ thu hồi: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.
- ✓ Tỷ số ion.



CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.162 Lần ban hành:02 Ngày ban hành: 30/10/2017 Trang: <b>9/9</b>
---	--	---

Cường độ tương đối của ion định tính so với ion định lượng phải nằm trong khoảng cho phép

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép GC-EI-MS
>50%	± 10%
20-50%	± 15%
10%-20%	± 20%
<10%	± 50%

- ✓ Độ lệch của thời gian lưu không quá 0.5% cho GC
- ✓ Độ lệch của dung dịch chuẩn kiểm tra không quá 15%
- ✓ Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart) mẫu thêm chuẩn 0.06 mg/kg

#### **E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu: BM.15.04a, BM.15.06