

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.274 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 1/9
--	--	---

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG HÓA CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT  
HỌ CARBAMAT VÀ HERBICIDE TRONG NƯỚC BẰNG HỆ  
THÔNG SẮC KÝ LÔNG GHÉP ĐẦU DÒ KHỐI PHỔ BA TỬ  
CỰC (LC/MS/MS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
TỪ HIẾU HẬU	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

**THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU**

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1			
2			
3			

## A. TỔNG QUAN

### I. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng hóa chất bảo vệ thực vật (TBVTV) (theo danh sách) trong nước ăn uống. Giới hạn phát hiện của phương pháp tham khảo theo:
- QCVN 01:2009/BYT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về chất lượng nước ăn uống.
- Danh sách những chất đánh giá theo bảng sau:

STT	Hợp chất	LOD	LOQ	
1	2.4 D	2.82	9.41	Nhóm A
2	2.4 DB	1.53	5.11	
3	2.4 DP(Dichloroprop)	2.59	8.64	
4	Bentazone	2.63	8.77	
5	Fludioxonil	2.01	6.70	
6	Ivermectin	2.02	6.73	
7	MCPA (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid)	2.00	6.68	
8	MCPP(Mecoprop)	2.82	9.41	
9	Aldicarb	0.27	0.90	Nhóm B
10	Aldicarb sulfone	0.16	0.53	
11	Bendiocarb	0.34	1.13	
12	Benthiocarb	0.16	0.53	
13	Carbaryl	0.21	0.69	
14	Carbofuran-3-hydroxy	0.21	0.69	
15	Carbosulfan	0.15	0.49	
16	Chlorpropham	0.23	0.76	
17	Ethiofencarb	0.21	0.69	
18	Fenobucarb	0.15	0.49	
19	Indoxacarb	0.38	1.25	
20	Iprovalicarb	0.15	0.49	
21	Isoprocarb	0.50	1.68	
22	Methiocarb	0.27	0.90	
23	Methomyl	0.24	0.79	
24	Naled	0.62	2.08	
25	Oxamyl	0.27	0.90	
26	Pendimethaline	0.21	0.69	
27	Pirimicarb	0.29	0.95	
28	Propamocarb	0.27	0.90	
29	Propham	0.27	0.90	

STT	Hợp chất	LOD	LOQ	
30	Propoxur	0.23	0.76	
31	Thiodicarb	0.23	0.76	

## II. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- EPA Method 632: The Determination of Carbamate and Urea Pesticides in Municipal and Industrial Wastewater
- EPA Method 8321b: Solvent-extractable nonvolatile compounds by high performance liquid chromatography/thermospray/mass spectrometry (hplc/ts/ms) or ultraviolet (uv) detection.

## III. NGUYÊN TẮC

- Mẫu được chiết trực tiếp với dung môi Dichlometan bằng kỹ thuật chiết lỏng lỏng rồi được làm sạch và phân tích bằng hệ thống sắc ký lỏng ghép đầu dò khối phổ LC/MS/MS.

## IV. THÔNG TIN AN TOÀN PHÒNG THÍ NGHIỆM

- Tuân thủ các nguyên tắc hoạt động phòng thí nghiệm
- Sử dụng tủ hút, kính bảo hộ và găng tay khi cần thiết.
- Các dung môi hữu cơ và các chất thải như Dichlorometan (DCM), Acetone phải được thu hồi vào các thùng chứa có dán nhãn và lưu giữ như các hóa chất thải độc hại.

## B. PHÂN TÍCH

### I. THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ PHÂN TÍCH

#### 1. Dụng cụ và thiết bị cơ bản

- Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg,
- Máy li tâm 50ml và 15mL
- Bình định mức 10 mL
- Micropipet các loại 20  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L, 5000  $\mu$ L
- Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.
- Màng lọc 0.45 $\mu$ m, vial và xy lanh.
- Phễu lọc bằng thủy tinh.

- Phễu chiết 1L.
- Ống đong 1L.
- Bình cầu 100mL.
- Pipet 5mL.

## 2. Thiết bị phân tích

- Hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ ba tứ cực TSQ Quantum hoặc tương đương

# II. HÓA CHẤT VÀ CHẤT CHUẨN

## 1. Hóa chất

- Nước cất một lần và nước cất khử ion.
- Dung môi Dichlorometan hãng J.Backer hoặc tương đương.
- Dung môi Acetone hãng J.Backer hoặc tương đương.
- Dung môi Acetonitril hãng J.Backer hoặc tương đương.
- Muối magie sulfat khan.
- Muối natriclorua khan.

## 2. Chất chuẩn

- Các hóa chất chuẩn hóa chất BVTV dạng rắn và lỏng của hãng Sigma Aldrich hoặc tương đương.
- Dung dịch chuẩn gốc khoảng 1000mg/kg: Cân chính xác khoảng 10 mg các chất chuẩn thuộc các họ nói trên vào các bình định mức 10 mL riêng biệt, hoà tan và định mức đến vạch bằng Acetonitril. 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:

$$C = m \cdot 1000 / V \cdot P$$

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

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

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

- Chuẩn hỗn hợp (10 mg/kg): Từ mỗi dung dịch gốc trên (1000 mg/kg) tương ứng lấy 100  $\mu$ L cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch với Acetonitril.
- Chuẩn hỗn hợp (1 mg/kg): Rút 1 mL từ hỗn hợp chuẩn 10 mg/L ở trên vào bình mức 10 mL, định mức tới vạch bằng Acetonitril.
- Dung dịch hỗn hợp surrogate TPP 20 mg/L(SS). Rút 200  $\mu$ L TPP 1000mg/L vào bình định mức 10mL. Sau đó định mức lại bằng Acetonitril
- Pha các dung dịch dãy chuẩn có nồng độ theo bảng sau:

Nồng độ dãy chuẩn ( $\mu$ g/kg )	25	50	100	200	400
Thể tích dung dịch chuẩn 10mg/kg (mL)	0.025	0.05	0.1	0.2	0.4
SS-CB D3 20 mg/kg (mL)	0.02				
Thể tích định mức 10mL Acetonitril:DI (2:8)	10				

- Bảo quản và lưu trữ:
  - Các chuẩn rắn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất. Cụ thể có 3 vị trí lưu trữ: chuẩn lưu tủ đông ( $-18^{\circ}\text{C}$ ), chuẩn lưu tủ mát ( $8^{\circ}\text{C}$ ) và chuẩn lưu ở nhiệt độ phòng ( $20^{\circ}\text{C}$ ).
  - 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, theo SANTE/11945/2015
  - Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc và đường chuẩn sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát ( $8^{\circ}\text{C}$ ), 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 hóa chất.

- 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 2.0 µg/L.

## **IV. PHÂN TÍCH MẪU**

### **1. Xử lý mẫu**

- Dùng ống đong 400mL mẫu đã đồng nhất vào phễu chiết 1L.
- Thêm chuẩn hỗn hợp hóa chất BVTV 1mg/L vào mẫu QC để kiểm tra hiệu suất thu hồi: 0.8ml (đối với TBVTV nhóm A), 0.08ml (đối với TBVTV nhóm B)
- Thêm 5g muối NaCL khan, lắc mạnh tan hết muối.
- Thực hiện chiết 3 lần với Dichlorometan (mỗi lần 30ml) , gom dịch chiết Dichlorometan lại vào bình cầu.
- Cô quay đến cạn, định mức lại bằng 1ml ACN. Pha loãng bằng DI (40 lần (đối với TBVTV nhóm A), 4 lần (đối với TBVTV nhóm B)), phân tích bằng hệ thống LC/MS/MS.

### **2. Điều kiện phân tích**

#### **a. Điều kiện LC**

- Cột XDB C18 (150 x 4.6mm, kích thước hạt 5µm).
- Pha động: methanol (0.1% acidformic) và H<sub>2</sub>O(0.1% acidformic + 0.1%amoniac).
- Tốc độ dòng: 0.3ml/phút
- Thể tích tiêm 20µL

#### **b. Điều kiện MS**

- Nguồn ion hóa: ESI(+)
- Nhiệt độ capillary: 350°C
- Sheath gas:40 psi , Aux gas: 4 psi
- Spray voltage: 4000V

- CID gas: 1.5mT

STT	Hợp chất	Ion mẹ	Ion con	Colision Energy
1	Carbaryl	202.0	145.0	22
		202.0	117.0	28
	Aldicarb	213.1	89.1	16
		213.1	116.1	11
2	Aldicarb sulfone	223.0	148.0	10
		223.0	86.0	14
3	Carbofuran-3-hydroxy	238.0	181.0	10
		238.0	163.0	16
4	Ethiofencarb	226.1	107.0	17
		226.1	164.0	8
5	Fenobucarb	208.0	94.9	14
		208.0	152.0	8
6	Indoxacarb	528.0	150.0	22
		528.0	203.0	40
7	Isoprocarb	194.1	95.1	14
		194.1	137.1	8
8	Iprovalicarb	321.1	119.1	16
		321.1	203.1	10
9	Methiocarb	226.0	121.0	22
		226.0	169.0	10
10	Methomyl	163.0	88.0	10
		163.0	106.0	10
11	Oxamyl	237.0	72.0	10
		237.0	90.0	10
12	Pirimicarb	239.1	72.0	18
		239.1	182.1	15
13	Propoxur	210.0	111.0	16
		210.0	168.0	10
14	Thiodicarb	355.0	87.9	16
		355.0	107.9	16
15	Carbosulfan	381.0	118.0	22
		381.0	76.0	34
16	Bendiocarb	224.1	167.0	8
		224.1	109.0	18
17	Propham	180.0	138.0	8
		180.0	120.0	16
18	Propamocarb	189.1	102.0	17
		189.1	144.0	12
19	2.4 D	220.9	160.9	9
			129.9	7
20		249	163	10

STT	Hợp chất	Ion mẹ	Ion con	Colision Energy
	2,4 DB		158.9	7
21	2,4 DP(Dichloroprop)	233	125	30
			161	18
22	Fludioxonil	247	160.9	18
			201	14
23	Ivermectin	218.9	124.9	7
			160.9	9
24	MCP(Prop)	213	105	31
			141	18
25	Naled	398	127	10
			109	10
26	Pendimethalin	263	35	10
		265	35	10
		267	35	10
27	TPP	327	77	60
			152	60

### 3. Trình tự của quá trình tiêu 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 các đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa tỷ lệ diện tích của chuẩn và nồng độ của chuẩn
- Hàm lượng chất phân tích 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, µg/kg.
- C<sub>0</sub>: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, µg/kg
- V<sub>extract</sub>: thể tích dịch chiết
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân (g) hoặc thể tích mẫu (ml)



#### D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- Đồ thị 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: 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
>50%	±20%
20-50%	±25%
10%-20%	±30%
<10%	±50%

- Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart): Giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận nồng độ của các chất: Ethiofencarb, Firimicar, Bendiocar, 2.4 D vào control chart sau mỗi lô mẫu phân tích thực tế ở mức spike 2 µg/L.

#### E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

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