

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.233 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 1/7
---	----------------------------------	---

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TRICHLORFON TRONG THỦY  
HẢI SẢN KHÔ BẰNG SẮC KÝ LỎNG GHÉP KHỐI PHỔ (LC/  
MS/MS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
LA THỊ TRÂM	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRỊNH THỊ MINH NGUYỆT

**THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU**

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

**A. TỔNG QUAN**

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.233 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 2/7
---	----------------------------------	---

## **I. Phạm vi áp dụng.**

Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng Trichlorfon (TCF) trong thủy hải sản khô. Giới hạn phát hiện là 6.0 µg/kg.

## **II. Tài liệu tham khảo.**

AOAC 2007.01: Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate

## **III. Nguyên tắc.**

Mẫu sau khi được đồng nhất sẽ được chiết với acetonitril/đệm acetate và magie sulfat theo AOAC 2007.01. Dịch chiết được làm sạch bằng hỗn hợp muối  $\text{MgSO}_4$  - C18 tỷ lệ 3:1 và được xác định trên LC/MS/MS.

## **IV. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm.**

- Tuân thủ các nguyên tắc hoạt động trong phòng thí nghiệm.
- Báo cáo tất cả các vấn đề gây tổn thương tới con người và các sự cố gây đổ vỡ hóa chất.
- Dung môi hữu cơ ACN và acetic acid được thu hồi vào trong thùng chứa có dán nhãn dung môi thải.

## **B. PHÂN TÍCH**

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

#### **1. Thiết bị cơ bản.**

- Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg
- Bình định mức 5ml, 10ml, 50 ml
- Máy ly tâm cho ống 15ml, 50ml
- Micropipet các loại 20 µL, 200 µL, 1000µL.
- Pipet thủy tinh 1ml, 2ml

#### **2. Thiết bị phân tích**

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.233 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 3/7
---	----------------------------------	---

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

## II. Hoá chất và chất chuẩn.

### 1. Hoá chất.

- Nước cất khử ion (nước DI)
- Acetonitrile (ACN), Acid acetic của Fisher hoặc tương đương
- 1% Acid acetic trong Acetonitrile: Pha 40 ml Acid acetic vào 4 L Acetonitrile.

- Hỗn hợp muối QuEChERS: Cân 4g muối  $MgSO_4$  và 1g muối  $CH_3COONa$  vào ống ly tâm 50 ml.

- Hỗn hợp muối clean up: Cân 300 mg  $MgSO_4$  và 100mg C18 vào ống ly tâm 15 ml.

### 2. Chất chuẩn.

#### a. Chuẩn gốc:

- Chuẩn Trichlorfon của Chem-service hoặc tương đương.
- Bảo quản và lưu trữ: chuẩn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất.

#### b. Dung dịch chuẩn gốc

- Dung dịch chuẩn gốc 1000  $\mu g/mL$ : Cân chính xác khoảng 10 mg các chất chuẩn vào các bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng ACN. 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:

$$C(\mu g/mL) = \frac{m(mg) \times 1000 \times P}{V(ml) \times 100}$$

Trong đó: C: là nồng độ chất chuẩn có trong dung dịch ( $\mu g/mL$ ).

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

V: là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).



CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.233 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 5/7
---	--	---

- Bảo quản và lưu trữ: Dây chuẩn làm việc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (4 - 8°C), sử dụng trong thời gian 3 tháng.

### III. Kiểm soát QA/QC.

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu Blank với nồng độ kiểm soát: 20.0 µg/kg

### IV. Xử lý mẫu.

- Cân  $5 \pm 0.1$  g mẫu đã đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml
- Mẫu QC: Thêm 100 µL dung dịch chuẩn TCF 1µg/mL vào mẫu blank để kiểm soát hiệu suất thu hồi.
- Thêm 15 mL nước DI, vortex trong 2 phút, để yên khoảng 20 phút.
- Thêm 10 mL 1%Aca/ACN, lắc mạnh trong 5 phút.
- Thêm tiếp vào 5g hỗn hợp muối QuEChERS (4g MgSO<sub>4</sub> và 1g CH<sub>3</sub>COONa), lắc mạnh trong 2 phút, ly tâm 3000 vòng /phút trong 5 phút.
- Làm sạch dịch chiết: Rút 2mL dịch chiết cho vào ống ly tâm 15 mL đã chứa sẵn 0.4 g hỗn hợp muối MgSO<sub>4</sub> khan + C<sub>18</sub> (3:1), vortex 1-2 phút, ly tâm 3000 vòng /phút (3-5phút).
- Pha loãng dịch chiết: rút 200 µL dịch chiết đã làm sạch vào ống ly tâm đã chứa sẵn 800 µL nước DI.
- Vortex, lọc vào vial qua màng lọc 0.45 µm. Phân tích trên LC/MS/MS

### V. Phân tích

#### a. Điều kiện LC

- Cột C18 (150 x 2.1 mm, 5µm)
- Pha động: MeOH 0.1% acid formic,  
DI 0.1 % acidformic + 0.1% amonia
- Tốc độ dòng: 350µl/phút
- Thể tích tiêm: 20µL

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.233 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 6/7
---	----------------------------------	---

Thời gian, phút	% MeOH (formic)	% DI (amonì format)
0.0	10	90
0.5	10	90
8.0	0	100
9.0	0	100
9.5	10	90
11.5	10	90

#### b. Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: ESI
- Nhiệt độ capillary: 350°C
- Sheath gas: 40, Aux gas: 4
- Spray voltage: 4000V
- CID gas: 1.5mT

#### c. 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.

#### a. Công thức tính toán:

Hàm lượng Triclorfon 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
- Co: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, µg/L
- V<sub>extract</sub>: Thể tích dịch chiết (mL)

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.233 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 7/7
---	----------------------------------	---

- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân (g)

**b. Ion định lượng, định tính**

Hợp chất	Ion mẹ	định tính	CE 1 (eV)	định lượng	CE 2 (eV)
Trichlorfon	257	79	30	109	18

**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: 80-110%
- Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart):

Giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận vào control chart sau mỗi lô mẫu phân tích ở mức spike 20 µg/kg.

**E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

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