

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.081 Lần ban hành: 03 Ngày ban hành: 01/03/2018 Trang: 1/21
---	----------------------------------	--

**ĐỊNH LƯỢNG ĐA DƯ LƯỢNG**  
**HÓA CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG RAU QUẢ**  
**BẰNG SẮC KÝ LÔNG ĐẦU DÒ KHỐI PHỔ BA TỬ CỰC VÀ**  
**SẮC KÝ KHÍ ĐẦU DÒ KHỐI PHỔ (LC/MS/MS - GC/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	Mục A. I Phạm vi áp dụng	Bổ sung chỉ tiêu được đánh giá	01/03/2018

## 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 (HCBVTV) (theo danh sách) trong rau quả. Quy trình xác nhận giá trị sử dụng tham khảo theo SANTE/11945/2015. Giới hạn phát hiện của phương pháp là 0.01 mg/kg và giới hạn định lượng là 0.03 mg/kg.

STT	Hợp chất	Phân loại nhóm HCBVTV	Thiết bị phân tích
1	@ 2,4-DDD	Organochlorine	GC/MS
2	@ 2,4-DDE	Organochlorine	GC/MS
3	@ 2,4-DDT	Organochlorine	GC/MS
4	@ 4,4-DDD	Organochlorine	GC/MS
5	@ 4,4-DDE	Organochlorine	GC/MS
6	@ 4-4-DDT	Organochlorine	GC/MS
7	@ Aldrin	Organochlorine	GC/MS
8	@ alpha-HCH	Organochlorine	GC/MS
9	@ beta-HCH	Organochlorine	GC/MS
10	@ Chlodane{cis}	Organochlorine	GC/MS
11	@ Chlodane{trans}	Organochlorine	GC/MS
12	@ Chlorobenzilate	Organochlorine	GC/MS
13	@ delta-HCH	Organochlorine	GC/MS
14	@ Dieldrin	Organochlorine	GC/MS
15	@ Endosulfan I	Organochlorine	GC/MS
16	@ Endosulfan II	Organochlorine	GC/MS
17	@ Endosulfan sulfate	Organochlorine	GC/MS
18	@ Endrin	Organochlorine	GC/MS
19	@ Endrin aldehyde	Organochlorine	GC/MS
20	@ Endrin ketone	Organochlorine	GC/MS
21	@ gama-HCH (Lindane)	Organochlorine	GC/MS

22	@ Heptachlor	Organochlorine	GC/MS
23	@ Heptachloro epoxide	Organochlorine	GC/MS
24	@ Hexachlorobenzene	Organochlorine	GC/MS
25	@ Methoxychlor	Organochlorine	GC/MS
26	2 Phenylphenol	No data	GC/MS
27	6-Benzylaminopurin (6-BAP)	Cytokinin	LC/MS/MS
28	Acephate	Organophosphorus	LC/MS/MS
29	Acetamiprid	Neonicotinoid	LC/MS/MS
30	Altrazine	Triazine	LC/MS/MS
31	Azinphos-methyl	Organophosphorus	LC/MS/MS
32	Azoxystrobin	Strobilurin	LC/MS/MS
33	Benalaxyl	Acylalanine	LC/MS/MS
34	Bendiocarb	Carbamate	LC/MS/MS
35	Benthiocarb	Carbamate	LC/MS/MS
36	Bifenthrine	Pyrethroids	GC/MS
37	Bitertanol	Triazole	LC/MS/MS
38	Boscalid	Pyridinecarboxamide	LC/MS/MS
39	Bromuconazole	Triazole	LC/MS/MS
40	Buprofezin	Thiadiazin	GC/MS
41	Cadusafos	Organophosphorus	LC/MS/MS
42	Carbaryl	Carbamate	LC/MS/MS
43	Carbendazim	Benzimidazole	LC/MS/MS
44	Carbofuran	Carbamate	LC/MS/MS
45	Chlorfenvinfos	Organophosphorus	LC/MS/MS
46	Chlorothalonil	Chloronitrile	GC/MS
47	Chlorpropham	Carbamate	LC/MS/MS
48	Chlorpyrifos	Organophosphorus	GC/MS
49	Chlorpyrifos methyl	Organophosphorus	GC/MS
50	Clothianidin	Neonicotinoid	LC/MS/MS
51	Coumaphos	Organophosphorus	GC/MS

52	Cyfluthrine	Pyrethroids	GC/MS
53	Cypermethrine	Pyrethroids	GC/MS
54	Cyproconazole	Triazole	LC/MS/MS
55	Cyprodinil	Anilinopyrimidine	LC/MS/MS
56	Cyromazine	Triazine	LC/MS/MS
57	Deltamethrine	Pyrethroids	GC/MS
58	Diazinon	Organophosphorus	GC/MS
59	Dichlorvos	Organophosphorus	GC/MS
60	Difenoconazole	Triazole	LC/MS/MS
61	Dimethenamid	Chloroacetamide	LC/MS/MS
62	Dimethoate	Organophosphorus	LC/MS/MS
63	Dimethomorph	Cinnamicacid	LC/MS/MS
64	Diniconazole	Triazole	LC/MS/MS
65	Dinotefuran	Neonicotinoid	LC/MS/MS
66	Diphenylamine	No data	LC/MS/MS
67	Disulfoton	Organophosphorus	GC/MS
68	Epoxiconazole	Triazole	LC/MS/MS
69	Ethiofencarb	Carbamate	LC/MS/MS
70	Ethion	Organophosphorus	GC/MS
71	Ethofenprox	Organophosphorus	GC/MS
72	Ethoprophos	Organophosphorus	LC/MS/MS
73	Ethoxyquin	Quinoline	LC/MS/MS
74	Fenamidone	Organophosphorus	LC/MS/MS
75	Fenamiphos	Organophosphorus	GC/MS
76	Fenarimol	Pyrimidine	LC/MS/MS
77	Fenbuconazole	Triazole	LC/MS/MS
78	Fenchlorphos(Ronnel)	Organophosphorus	GC/MS
79	Fenhexamid	Hydroxyanilide	LC/MS/MS
80	Fenitrothion	Organophosphorus	GC/MS
81	Fenobucarb	Carbamate	LC/MS/MS

82	Fenoxaprop-ethyl	Organophosphorus	LC/MS/MS
83	Fenpropathrin	Pyrethroids	GC/MS
84	Fenpropimorph	Morpholine	LC/MS/MS
85	Fenthion	Organophosphorus	GC/MS
86	Fenvalerate	Pyrethroids	GC/MS
87	Fipronil	Phenylpyrazole	GC/MS
88	Flucythrinate	Pyrethroids	GC/MS
89	Fludioxonil	Phenylpyrrole	GC/MS
90	Fluopicolide	Organophosphorus	LC/MS/MS
91	Fluopyram	Organophosphorus	LC/MS/MS
92	Flusilazole	Triazole	LC/MS/MS
93	Flutolanil	Oxathiin	LC/MS/MS
94	Flutriafol	Organophosphorus	LC/MS/MS
95	Fluxapyroxad	Organophosphorus	LC/MS/MS
96	Folpet	Phthalimide	LC/MS/MS
97	Hexaconazole	Triazole	LC/MS/MS
98	Imazalil	Imidazole	LC/MS/MS
99	Imidacloprid	Neonicotinoid	LC/MS/MS
100	Indoxacarb	Carbamate	LC/MS/MS
101	Iprodione	Dicarboximide	GC/MS
102	Iprovalicarb	Carbamate	LC/MS/MS
103	Isofenphos - oxon	Organophosphorus	LC/MS/MS
104	Isoprocab	Carbamate	LC/MS/MS
105	Isoprothiolan	No data	LC/MS/MS
106	Isopyrazam	Organophosphorus	LC/MS/MS
107	Kresoxim methyl	Strobilurin	LC/MS/MS
108	Lambda-Cyhalothrin	Pyrethroids	GC/MS
109	Malathion	Organophosphorus	LC/MS/MS
110	Mandipropamid	No data	LC/MS/MS
111	Mecarbam	Organophosphorus	LC/MS/MS

112	Metalaxyl	Acylalanine	GC/MS
113	Methacrifos	Organophosphorus	GC/MS
114	Methidathion	Organophosphorus	LC/MS/MS
115	Methiocarb	Carbamate	LC/MS/MS
116	Methomyl	Oximecarbamate	LC/MS/MS
117	Methoxyfenozide	Diacylhydrazine	LC/MS/MS
118	Metrafenone	Organophosphorus	LC/MS/MS
119	Molinate	Thiocarbamate	GC/MS
120	Myclobutanil	Triazole	LC/MS/MS
121	Omethoate	Organophosphorus	LC/MS/MS
122	Paclobutrazol	Triazole	LC/MS/MS
123	Parathion ethyl	Organophosphorus	GC/MS
124	Parathion methyl	Organophosphorus	GC/MS
125	Penconazole	Triazole	LC/MS/MS
126	Penthiopyrad	Organophosphorus	LC/MS/MS
127	Permethrin	Pyrethroids	GC/MS
128	Phenthoate	Organophosphorus	LC/MS/MS
129	Phosalone	Organophosphorus	LC/MS/MS
130	Phosmet	Organophosphorus	LC/MS/MS
131	Phosphamidon	Organophosphorus	LC/MS/MS
132	Phoxim	Organophosphorus	LC/MS/MS
133	Piperonyl butoxide	No data	LC/MS/MS
134	Pirimicarb	Carbamate	LC/MS/MS
135	Pirimiphos - ethyl	Organophosphorus	GC/MS
136	Pirimiphos - methyl	Organophosphorus	GC/MS
137	Procloraz	No data	LC/MS/MS
138	Profenofos	Organophosphorus	GC/MS
139	Propamocarb	Carbamate	LC/MS/MS
140	Propiconazole	Triazole	LC/MS/MS
141	Propoxur	Carbamate	LC/MS/MS

142	Prothiofos	Organophosphorus	GC/MS
143	Pyraclostrobin	Strobilurin	LC/MS/MS
144	Pyrazophos	Organophosphorus	GC/MS
145	Pyrimethanil	Organophosphorus	LC/MS/MS
146	Quinalphos	Organophosphorus	GC/MS
147	Quintozene	Organochlorine	GC/MS
148	Resmethrine	Pyrethroids	GC/MS
149	Sedaxane	Organophosphorus	LC/MS/MS
150	Spinetoram	No data	LC/MS/MS
151	SpinosadA	No data	LC/MS/MS
152	SpinosadD	No data	LC/MS/MS
153	Spirotetramat	Organophosphorus	LC/MS/MS
154	Sulfoxaflor	Organophosphorus	LC/MS/MS
155	Tau-Fluvalinate	Pyrethroids	GC/MS
156	Tebuconazole	Triazole	LC/MS/MS
157	Terbufos	Organophosphorus	GC/MS
158	Tetrachlorvinphos	Organophosphorus	GC/MS
159	Thiabendazole	Benzimidazole	LC/MS/MS
160	Thiacloprid	Neonicotinoid	LC/MS/MS
161	Thiamethoxame	Neonicotinoid	LC/MS/MS
162	Thiodicarb	Carbamate	LC/MS/MS
163	Thiophanate-methyl	Benzimidazole	LC/MS/MS
164	Triadimefon	Triazole	LC/MS/MS
165	Triadimenol	Triazole	LC/MS/MS
166	Triazophos	Organophosphorus	LC/MS/MS
167	Trichlorfon	Organophosphorus	LC/MS/MS
168	Trichloronat	Organophosphorus	GC/MS
169	Tricyclazole	Reductase	LC/MS/MS
170	Trifloxystrobin	Strobilurin	LC/MS/MS
171	Trifluralin	No data	GC/MS

172	Triticonazole	Triazole	LC/MS/MS
173	Vamidotion	Organophosphorus	LC/MS/MS
174	Vinclozolin	Dicarboximide	GC/MS

## **II. Tài liệu tham khảo.**

1. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate; AOAC Official Method 2007.01
2. ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
3. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed, SANTE/11945/2015.

## **III. Nguyên tắc.**

Phương pháp này dựa trên quá trình chiết HCBVTV từ nền mẫu rau quả lên dung môi hữu cơ Acetonitril (ACN), sử dụng hỗn hợp muối QuEChERS. Sau đó mẫu được phân tích trên thiết bị sắc ký khí đầu dò MS (GC/MS) và sắc kí lỏng cột C-18, đầu dò MS (LC/MS/MS). Nồng độ HCBVTV được tính toán trực tiếp từ sắc kí đồ thông qua diện tích hoặc chiều cao peak so với dung dịch chuẩn.

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

- 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 ACN, 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.
  - Pipet thủy tinh (thể tích  $5 \pm 0.1$  mL và  $10 \pm 0.1$  mL)



- Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg,
- Máy ly tâm cho ống 50ml và 15mL
- Bình định mức 10 mL
- Micropipet các loại 20  $\mu$ L, 200  $\mu$ L, 1000  $\mu$ L.
- Pipet các loại 1 mL, 2 mL, 5mL, 10 mL.
- Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.
- Màng lọc 0.45 $\mu$ m, vial và xylanh.

## 2. Thiết bị phân tích

- Hệ thống sắc ký lỏng ghép khối phổ ba tứ cực TSQ Quantum Ultra hoặc tương đương.
- Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ một tứ cực GC 6890 – MS 5973 hoặc tương đương.

## II. Hoá chất và chất chuẩn.

### 1. Hoá chất.

- **Hỗn hợp muối QuEChERS:** Cân 4g muối  $\text{MgSO}_4$  và 1g muối  $\text{CH}_3\text{COONa}$  vào ống ly tâm 50 ml.
- **Hỗn hợp muối clean up:** Cân 150mg  $\text{MgSO}_4$  và 50mg PSA vào ống ly tâm 15 ml.
- **Dung dịch chiết ACN (1% acetic acid):** Pha 40 ml acetic acid vào 4L dung môi ACN

### 2. Chất chuẩn.

#### a. Chuẩn gốc:

- Các hóa chất chuẩn HCBVTV dạng rắn và lỏng từ chuẩn của Sigma Aldrich hoặc tương đương.
- Nội chuẩn Carbendazim-D3, nội chuẩn alpha Lindane-D6 ( $\alpha$ -HCH-D6) , chuẩn surrogate Triphenylphosphate (TPP) của Sigma Aldrich hoặc tương đương

- 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°C), chuẩn lưu tủ mát (8°C) và chuẩn lưu ở nhiệt độ phòng (20°C).

#### ***b. Dung dịch chuẩn gốc***

- Dung dịch chuẩn gốc các chất HCBVTV: 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 bằng Acetonitril 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:

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

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 (%).

- Nội chuẩn Carbendazim-D3, alpha Lindane-D6 ( $\alpha$ -HCH-D6) và chuẩn Triphenylphosphate (TPP) được pha và tính toán nồng độ tương tự như dung dịch chuẩn gốc HCBVTV.
- 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°C), sử dụng trong thời gian 3 năm.

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

- Tất cả các dung dịch chuẩn làm việc đều được pha trong dung môi ACN tinh khiết phân tích.
- Chuẩn hỗn hợp (10 mg/L): Từ mỗi dung dịch gốc trên (1000 mg/L) tương ứng lấy 100  $\mu$ L cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch với Acetonitril. Chuẩn hỗn hợp được pha theo các họ HCBVTV.
  - Hỗn hợp chuẩn 10 mg/L HCBVTV nhóm Pyrethroids.
  - Hỗn hợp chuẩn 10 mg/L HCBVTV nhóm Organophosphorus
  - Hỗn hợp chuẩn 10 mg/L HCBVTV nhóm Carbamat

- Hỗn hợp chuẩn 10 mg/L HCBVTV nhóm Organochlor
- Hỗn hợp chuẩn 10 mg/L HCBVTV nhóm Acylalanine, Benzimidazol, Phenylpyrazole, Pyridinecarboxamide, Strobilurin, Reductase, Triazole, Triazine.

- Chuẩn hỗn hợp (1 mg/L): Rút 1.00 mL mỗi loại hỗn hợp chuẩn 10 mg/L ở trên vào bình mức 10 mL, định mức tới vạch bằng Acetonitril.
- Dung dịch nội chuẩn  $\alpha$ -HCH-D6 10 mg/L. Từ dung dịch gốc (1000 mg/L) rút 100  $\mu$ L cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch với Acetonitril.
- Dung dịch hỗn hợp surrogate TPP 20 mg/L , Carbendazim-D<sub>3</sub> 2mg/L (SS). Rút 200  $\mu$ L TPP 1000mg/L và 20  $\mu$ L Carbendazim-D<sub>3</sub> 1000mg/L vào bình định mức 10mL. Sau đó định mức lại bằng Acetonitril
- 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°C), sử dụng trong thời gian 1 năm.
- Pha dãy chuẩn làm việc:
  - o Định tính: Sử dụng 1 điểm chuẩn ở hàm lượng LOQ để định tính các mẫu không phát hiện HCBVTV
  - o Định lượng:
 

LC/MS/MS: Pha các điểm chuẩn có nồng độ 1 $\mu$ g/L, 2  $\mu$ g/L, 5  $\mu$ g/L, 10  $\mu$ g/L, 20  $\mu$ g/L, 40  $\mu$ g/L trong dung môi ACN-DI (2-8).

Nồng độ dãy chuẩn ( $\mu$ g/L )	1.0	2.0	5.0	10.0	20.0	40
Thể tích TPP 20mg/L( $\mu$ l)	20					
Thể tích chuẩn làm việc 1mg/L ( $\mu$ l)	10	20	50	100	200	400
Thể tích định mức (ml) ACN-DI	10ml					

--	--

GC/MS : Pha các điểm chuẩn có nồng độ 10 µg/L, 25 µg/L, 50 µg/L, 100 µg/L, 200 µg/L trong nền mẫu rau, trái cây thích hợp không phát hiện HCBVTV theo bảng sau:

V (µL) Chuẩn hỗn hợp 1mg/L	ST1 (10µg/L)	ST2 (25µg/L)	ST3 (50µg/L)	ST4 (100µg/L)	ST5 (200µg/L)
	10	25	50	100	200
V (µL) SS - CB-D3 (20mg/L - 2mg/L)	10				
V (µL) IS – apha Lindane (20mg/L)	20				
V (µL) nền mẫu rau	770				
V (µL) ACN	190	175	150	100	0

- 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 (8°C), sử dụng trong thời gian 3 tháng.
- Khoảng tuyến tính của đường chuẩn : Đường chuẩn sau khi lập phải có  $R^2$  nằm trong khoảng từ 0.99-1.00.

**Ghi chú :**

- Nếu đường chuẩn không đạt được độ tuyến tính  $R^2$  từ 0.99-1.00 thì kiểm nghiệm viên phải pha lại đường chuẩn.
- Nếu mẫu có nồng độ cao hơn đường chuẩn thì phải pha loãng mẫu để nồng độ mẫu nằm trong đường chuẩn.

**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: 0.01 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 0.01 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

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

Trong đó:

R = Độ thu hồi

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

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ của chất phân tích thêm vào mẫu

**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.**

- Cân 10 ± 0.1 g mẫu đã đồng nhất vào ống ly tâm 50 mL, thêm 100 µL chuẩn SS 20 mg/L.
- Mẫu QC-spike: Thêm 100 µL dung dịch chuẩn HCBVTV nồng độ 1mg/L vào mẫu blank để kiểm soát hiệu suất thu hồi.

- Bổ sung từ 2 – 5 mL nước cất trong trường hợp mẫu có ít nước hoặc sệt, vortex 15-30 giây). Nếu mẫu chứa 80% hàm lượng nước thì bỏ qua bước này.
- Thêm vào 10 mL ACN (1% CH<sub>3</sub>COOH), đậy nắp, lắc mạnh trong 1 phút.
- Thêm tiếp vào hỗn hợp MgSO<sub>4</sub> (4 ± 0.2 g) và CH<sub>3</sub>COONa (1 ± 0.05 g), lắc mạnh trong 1 phút, ly tâm 3000 vòng /phút trong 5 phút.
- Làm sạch dịch chiết: Rút 1.5 mL dịch chiết thô ACN cho vào ống ly tâm 15 mL chứa sẵn hỗn hợp muối 225 mg MgSO<sub>4</sub> khan + 75 mg bột PSA , vortex 1-2 phút, ly tâm 3000 vòng /phút (3-5phút).
- Dịch chiết sạch sau ly tâm được chia thành 2 phần:
  - + Xác định trên GC/MS: Rút 490 µl dịch chiết vào vial có chứa sẵn 10 µl nội chuẩn α-HCH-D6 10 mg/L.
  - + Xác định trên LC/MS/MS: Rút 200 µL dịch chiết cho vào ống ly tâm 15mL, thêm 800 µL nước cất khử ion, vortex 10-15 giây, lọc mẫu qua màng lọc 0.45 µm vào vial 2 mL.

## V. Phân tích

### 1. Thông số thiết bị

 Điều kiện LC/MS/MS

#### a. Điều kiện LC

- Cột C-18 (150 x 2.1 mm, 5µm)
- Pha động: methanol (0.1% HCOOH) và H<sub>2</sub>O khử ion (0.1% HCOONH<sub>4</sub>)
- Tốc độ dòng: 350 µl/phút
- Thể tích tiêm 20µL

Thời gian, phút	H <sub>2</sub> O (0.1 %HCOONH <sub>4</sub> ) %	MeOH (0.1 % HCOOH) %
0	90	10
1.5	90	10

5	20	80
8	10	90
9		100
11		100
11.5	90	10
13	90	10

## b. Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: ESI+
- Chế độ: SRM
- Ion định tính, định lượng

Hợp chất	Ion mẹ m/z	Ion định lượng m/z	Ion định tính m/z
Acetamiprid	223	126	56.1
Atrazine	216.1	174.1	96.1
Azoxystrobin	404	372	329
Benalaxyl	326.1	148	91
Bitertanol	338.1	70.1	99.1
Boscalid	342.9	307	139.9
Bromuconazole	376	158.9	70.1
Carbendazim	192.1	160.1	132.1
Clothianidin	250	169	132
Cyproconazole	292.2	70.2	125.1
Difenoconazole	406	251.1	111.1
Diniconazole	326.1	70.2	159
Epoxiconazole	330	121	101
Fenbuconazole	337	70.1	125
Flusilazole	316	247	165
Imidacloprid	256.1	175.1	209.1
Kresoxim-methyl	314.1	116	206
Myclobutanil	289.1	70.2	125.1
Paclobutrazol	294.1	125.1	70.2
Phosalone	367.9	181.9	110.9

Phosphamidon	300.1	174.1	127.1
Propiconazole	342	69	159
Pyraclostrobin	388.1	163	193.9
Pyrazophos	374	222.1	194
Tebuconazole	308	70.1	125
Thiabendazole	202	175	131
Thiamethoxam	292	211.2	132
Thiophanate-methyl	343	151	93
Triadimefon	294.1	69.3	197.2
Triadimenol	296.1	70.2	99.1
Triazophos	314.1	161.9	118.9
Tricyclazole	190	163	136
Trifloxystrobin	409	186	145
Triticonazole	318.1	70.1	124.9
Acephate	184.1	143.0	125.1
Atrazine	216.1	174.1	96.1
Bendiocarb	224.1	167	109
Cadusafos	271.1	159.0	131.0
Carbaryl	202.0	145.0	117.0
Carbofuran	222.1	165.1	123.0
Chlorpropham	214.1	172.0	154.0
Cyprodinil	226.0	93.0	108.0
Cyromazine	167.0	60.2	108.1
Dimethenamid	276.0	244.0	168.0
Dimethoate	230.1	125.0	199.0
Dimethomorph	388.1	300.9	165.0
Diphenylamine	170.0	93.0	92.0
Ethiofencarb	226.1	107.0	164.0
Ethoprophos	243.2	97.0	131.0
Ethoxyquin	218.2	148.1	160.1
Fenarimol	331.0	268.0	81.0
Fenhexamid	302.1	97.2	55.3
Fenobucarb	208.0	94.9	152.0
Fenoxaprop-ethyl	362.1	288.1	121.1
Fenpropimorph	304.2	147.1	57.2
Flutolanil	324.1	262.1	65.0
Hexaconazole	314.0	70.1	159.0
Imazalil	297.0	159.0	69.0



Indoxacarb	528.0	150.0	203.0
Iprovalicarb	321.1	119.1	203.1
Isoprocarb	194.1	95.1	137.1
Malathion	331.0	127.0	99.0
Mecarbam	330.0	227.1	97.0
Methidathion	303.0	85.1	145.0
Methiocarb	226.0	121.0	169.0
Methomyl	163.0	88.0	106.0
Methoxyfenozone	369.1	149.1	313.2
Omethoate	214.1	125.1	183.1
Penconazole	284.0	70.1	159.0
Phenthoate	321.0	163.0	135.0
Phosmet	318.0	160.0	77.0
Piperonyl butoxide	356.3	176.9	119.0
Pirimicarb	239.1	72.0	182.1
Prochloraz	376.0	307.1	70.1
Propamocarb	189.1	102.0	144.0
Propoxur	210.0	111.0	168.0
SpinosadA	732.6	142.0	98.1
SpinosadD	746.5	142.0	98.1
Tebufofenozide	353.1	133.0	297.1
Thiacloprid	253.0	126.0	90.1
Thiodicarb	355.0	87.9	107.9
Trichlorfon	257.0	109.0	79.0

## 🌈 Điều kiện GC/MS

### a. Điều kiện GC

- Cột HP-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25µm)
- Khí mang: Heli
- Chương trình nhiệt: 90 °C ( 2 phút), tăng 25 °C/phút đến 150 °C ( 0 phút), tăng 3°C/phút đến 200 °C (0 phút), tăng 8 °C/phút đến 280 °C (11 phút).
- Chế độ tiêm: không chia dòng
- Tốc độ dòng: 2.3 ml/phút ở chế độ đẳng áp P=22.6 PSI tại 90 °C.
- Nhiệt độ buồng tiêm: 280 °C

- Nhiệt độ transferline: 280 °C

## b. Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 230 °C

- Dòng phát xạ: 34.6 µA

- Chế độ: SIM

Hợp chất	Ion định lượng	Ion định tính		
@ 2,4-DDD	235	237	165	
@ 2,4-DDE	248	249	182	154
@ 2,4-DDT	237	165	246	
@ 4,4-DDD	235	237	165	
@ 4,4-DDE	246	248	176	
@ 4-4-DDT	237	165	246	
@ Aldrin	263	293	265	
@ alpha-HCH	219	181	183	
@ beta-HCH	219	181	183	
@ Chlodane{cis}	373	375	377	
@ Chlodane{trans}	373	375	377	
@ Chlorobenzilate	251	253	139	
@ delta-HCH	219	181	183	
@ Dieldrin	263	277	279	
@ Endosulfan I	241	237	195	
@ Endosulfan II	241	159	195	
@ Endosulfan sulfate	272	274	387	
@ Endrin	263	261	265	
@ Endrin aldehyde	345	279	250	
@ Endrin ketone	317	281	319	
@ gama-HCH (Lindane)	219	181	183	
@ Heptachlor	272	274	337	
@ Heptachloro epoxide	353	355	351	

@ Hexachlorobenzene	284	286	282	
@ Methoxychlor	227	228	152	
2 Phenylphenol	170	169	171	
Benalaxyl	148	91	206	204
Bifenthrine	181	166	165	
Chlorothalonil	266	264	268	
Chlorpyrifos	314	316	197	
Chlorpyrifos methyl	286	288	125	
Coumaphos	362	364	226	
Cyfluthrine	226	206	163	165
Cypermethrin	181	163	165	209
Deltamethrine	181	251	253	255
Diazinon	179	137	304	
Dichlorvos	4.96	109	185	79
Disulfoton	274	186	153	
Ethion	384	231	153	
Ethofenprox	163	183	376	
Fenamiphos	303	288	154	
Fenchlorphos(Ronnel )	285	287	125	
Fenitrothion	277	260	125	
Fenpropathrine	181	265	97	349
Fenthion	278	279	280	
Fenvalerate	225	419	167	125
Fipronil	367	369	213	
Fipronil	367	369	213	215
Flucythrinate	199	157	181	
Fludioxonil	246	248	176	
Fluvalinate	250	252	181	
Iprodione	314	316	187	
Lamda-Cyhalthrine	181	197	208	
Metalaxyl	249	206	160	
Methacrifos	180	125	240	
Molinate	187	126	98	
Parathion ethyl	291	139	155	
Parathion methyl	263	109	125	
Permethrin	183	163	165	
Pirimiphos - ethyl	333	318	304	

Pirimiphos - methyl	277	260	125	
Profenofos	337	374	339	
Prothiofos	267	309	239	
Quinalphos	146	157	298	
Quintozene	295	237	249	
Resmethrin	123	171	143	128
Triluralin	306	286		
Terbufos	231	288	153	
Tetrachlorvinphos	331	329	109	
TPP (SS)	326	325		
Trichloronat	297	109	269	
Vinclozolin	212	285	198	
$\alpha$ -HCH-D6 (IS)	224	222		

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

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, ng/g ( $\mu\text{g/L}$ )
- $C_0$ : nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, ng/mL
- $V_{\text{extract}}$ : Thể tích dịch chiết
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân (g) hoặc thể tích mẫu (mL)

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

### 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

✓ của thời không cho LC cho GC	Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép GC-EI-MS	Sai số cho phép LC/MS/MS	Độ lệch gian lưu quá 2.5% và 0.5%
	>50%	± 10%	± 30%	
	20-50%	± 15%	± 30%	
	10%-20%	± 20%	± 30%	
	<10%	± 50%	± 30%	

- ✓ 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).

Thực hiện kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích theo SANTE/11945/2015 với 10% số chất trong tổng số các chất HCBVTV ở mức thêm chuẩn 0.01 mg/kg. Giá trị hiệu suất thu hồi các chất đại diện được ghi nhận vào control chart sau mỗi lô mẫu phân tích .

- Các chất thực hiện spike kiểm soát đại diện dành cho GC: Cypermethrin, Permethrin, Cis-chlordan, Diazinon, Chlorpyrifos, Profenofos, Metalaxyl, Fipronil.
- Các chất thực hiện spike kiểm soát đại diện dành cho LC: Fenobucarb, Pirimicarb, Acetamipride, Quinalphos, Triazophos, Azoxystrobin, Carbendazim, Difenconazol, Tebuconazol.

Các chất HCBVTV còn lại được định kì kiểm tra sau mỗi 6 tháng ở mức thêm chuẩn 0.01 mg/kg. Các giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận vào control chart.

#### **E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

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