

KỸ THUẬT CHUẨN BỊ MẪU QuEChERS KẾT HỢP VỚI GC-MS ĐỂ PHÂN TÍCH ĐỒNG THỜI HOÁ CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG RAU, CỦ, QUẢ

Huỳnh Thị Túy Ngọc¹, Nguyễn Đăng Giảng Châu^{2*}

¹ Trung tâm kiểm nghiệm Thuốc, Mỹ phẩm, Thực phẩm Thừa Thiên Huế, 17 Trương Định, Huế, Việt Nam

² Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, 77 Nguyễn Huệ, Thành phố Huế

* Tác giả liên hệ Nguyễn Đăng Giảng Châu <chaundg@hueuni.edu.vn>

(Ngày nhận bài: 10-12-2022; Ngày chấp nhận đăng: 05-01-2023)

Tóm tắt. Tồn dư hoá chất bảo vệ thực vật trong nông sản là thước đo quan trọng để đánh giá mức độ an toàn thực phẩm. Nghiên cứu này phát triển và thẩm định một phương pháp phân tích có hiệu quả rất tốt để xác định đồng thời dư lượng của chín loại hoá chất bảo vệ thực vật thế hệ mới trong rau, củ, quả. Trong phương pháp này, chúng tôi áp dụng kỹ thuật chuẩn bị mẫu QuEChERS, sử dụng MgSO₄ và natriacetate trihydrate cho bước làm sạch ban đầu; sau đó, chiết phân tán bằng chất hấp phụ PSA và GCB để loại bỏ toàn bộ tạp chất có trong nền mẫu và kết hợp với GC-MS để định tính và định lượng. Phương pháp đánh giá có giới hạn phát hiện thấp đối với các chất phân tích (3–8 µg·kg⁻¹), độ thu hồi tốt (70–120%), độ lặp lại tốt và độ tuyến tính cao. Khi áp dụng thực tế để phân tích các mẫu rau, củ, quả thu thập tại các chợ trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế, chúng tôi đã phát hiện thấy tồn dư của một số HCBVTV ở mức cao.

Từ khóa: QuEChERS, hoá chất bảo vệ thực vật, nông sản, chiết phân tán

QuEChERS technique followed by GC-MS for trace detection of pesticides in vegetables and fruits

Huỳnh Thị Túy Ngọc¹, Nguyễn Đăng Giảng Châu^{2*}

¹ Center for Testing Drugs, Cosmetics, and Foods, Thua Thien Hue Province, 17 Truong Dinh St., Hue, Vietnam

² Faculty of Chemistry, University of Sciences, Hue University, 77 Nguyen Hue St., Hue, Vietnam

* Correspondence to Nguyen Dang Giang Chau <chaundg@hueuni.edu.vn>

(Received: 10 December 2022; Accepted: 05 January 2023)

Abstract. Pesticide residues in agricultural products are an essential measure to assess food safety. In this study, we successfully developed and validated an effective analytical method for the simultaneous determination of nine new-generation pesticides in vegetables and fruits. We employed the QuEChERS sample preparation technique, using MgSO₄ and sodium acetate trihydrate for the initial clean-up step, followed by dispersive solid-phase extraction with PSA and GCB adsorbents, to remove all impurities in the sample matrix. GC-MS was then utilized for qualitative and quantitative analysis. The method exhibited a low detection limit for analytes (3–8 µg·kg⁻¹), a 70–120% recovery, good repeatability, and good linearity. We applied the technique in practice to analyze 16 vegetable and fruit samples collected

at markets in Thua Thien Hue province and found that the residues of some pesticides were at high levels.

Keywords: QuEChERS, pesticides, agricultural product, dispersive solid-phase extraction

1 Mở đầu

Hiện nay trên thế giới, có trên 1000 loại hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) đã và đang được sử dụng [1]. HCBVTV được xem như là một công cụ không thể nào thiếu cho ngành canh tác và sản xuất nông nghiệp truyền thống. Tuy nhiên, vấn đề gây lo lắng khi sử dụng HCBVTV đó là tồn dư trong nông sản và môi trường. Nhiều công bố đã cảnh báo những rủi ro sức khỏe cho con người khi bị phơi nhiễm HCBVTV [2, 3]. Phân tích dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) trong nông sản và trong môi trường đã và đang được thực hiện ở hàng ngàn phòng thí nghiệm ở khắp nơi trên thế giới.

Để xác định dư lượng các loại HCBVTV trong các mẫu nông sản nói riêng và các mẫu môi trường (nước, đất, trầm tích, không khí, sinh vật) nói chung, người ta phải dùng các phương pháp phân tích công cụ hiện đại. Phương pháp phổ biến hiện nay là phương pháp phân tích sắc ký khí (GC – Gas Chromatography) với các đầu dò (detector) khác nhau như ECD (detector cộng kết điện tử), NPD (detector nitro-phospho), MSD (detector khối phổ), v.v [4-6]. Phương pháp phân tích sắc ký lỏng (LC – Liquid Chromatography) với detector UV-Vis, diode mảng (DAD), hoặc MSD cũng được dùng trong nhiều trường hợp, tùy thuộc vào nhóm HCBVTV cần phân tích [7]. Kỹ thuật chiết HCBVTV từ mẫu cho phân tích sắc ký chủ yếu là kỹ thuật chiết dung môi và chiết pha rắn (SPE – Solid Phase Extraction). Giai đoạn chiết mẫu đóng vai trò quan trọng trong quy trình phân tích, vì đối với mỗi loại mẫu có pha nền (matrix) khác nhau, cần phải có kỹ thuật chiết thích hợp nhằm chiết HCBVTV từ mẫu, tách các chất cản trở, làm sạch và làm giàu, tạo điều kiện thuận lợi cho giai đoạn phân tích sắc ký tiếp theo để định tính và định

lượng riêng lẻ hoặc đồng thời nhiều HCBVTV trong mẫu [8, 9].

Năm 2003, lần đầu tiên, nhóm tác giả Anastassiades và cộng sự [10] đã mô tả một phương pháp “nhanh, dễ dàng, rẻ tiền, hiệu quả, mạnh mẽ, và an toàn” (quick, easy, cheap, effective, rugged and safe – QuEChERS) để phân tích đồng thời tồn dư hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) trong rau củ quả. Phương pháp bao gồm một quá trình chiết dung môi (sử dụng acetonitrile là chủ đạo), chiết pha rắn (sử dụng các muối natri acetate, $MgSO_4$ là chủ đạo) để loại bỏ phần lớn các chất khỏi nền mẫu, làm sạch bằng kỹ thuật chiết phân tán d-SPE (dispersive solid phase extraction) sử dụng chất hấp phụ PSA (Primary Secondary Amine), C18, hoặc GCB (graphitized carbon black). Tiếp đó, bước định tính và định lượng được thực hiện bằng phép phân tích sắc ký khí hoặc lỏng. Đặc điểm nổi bật của phương pháp là quá trình chiết sử dụng một lượng rất ít dung môi và chất hấp phụ nhưng lại cho hiệu quả chiết ưu việt và loại bỏ gần như hoàn toàn tạp chất trong nền mẫu, giúp giảm lượng lớn thời gian, chi phí phân tích, và ít thải hóa chất ra môi trường [6, 10]. Từ đó, nhiều nghiên cứu đã ứng dụng và cải tiến quy trình đề xuất của Anastassiades, mở rộng ra nhiều nhóm HCBVTV và trên nhiều nền mẫu khác nhau [6, 11-13]. Tuy nhiên, phương pháp này ở Việt Nam vẫn chưa được áp dụng nhiều. Chủ yếu các nghiên cứu về HCBVTV hiện nay vẫn sử dụng quy trình tách chiết truyền thống, với lượng lớn dung môi sử dụng, và độ nhạy cũng như độ đúng của phép phân tích còn nhiều hạn chế [14].

Từ những thực tế trên, nghiên cứu này được xây dựng nhằm mục đích áp dụng kỹ thuật QuEChERS kết hợp với GC-MS để phân tích đồng thời tồn dư hóa chất bảo vệ thực vật trong nông

sản, với hy vọng kết quả nghiên cứu sẽ hiệu lực hóa được phương pháp mới, giảm thời gian phân tích, giảm thiểu các bước phân tích, ít tiêu tốn hóa chất và đạt độ đúng cao hơn.

2 Thực nghiệm

2.1 Hóa chất và thiết bị

Các hóa chất sử dụng bao gồm dung môi toluene và acetonitrile loại dùng cho phân tích sắc ký của hãng J.T. Baker (USA), các hạt hấp phụ PSA, GCB, C18 của Sigma Aldrich (USA). Các hóa chất $MgSO_4$, $CH_3COONa \cdot 3H_2O$, NaCl, Na_2SO_4 khan loại tinh khiết dùng cho phân tích.

Các HCBVTV chuẩn được cấp chứng chỉ gồm acetochlor, chlorpyrifos, fipronil, pretilachlor, fluazifop-p-butyl, trifloxystrobin, propiconazole, tebuconazole, cypermethrin, chất nội chuẩn (IS) pyrene D10, chất đồng hành δ -HCH của hãng Sigma Aldrich (USA). Đây là những hoạt chất được sử dụng nhiều trong canh tác rau xanh trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế (dựa vào số liệu phỏng vấn nông hộ, không trình bày ở đây), đồng thời có thể phân tích được bằng phương pháp sắc ký khí.

Các dung dịch chuẩn làm việc được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc bằng toluene. Dung dịch chuẩn gốc được bảo quản trong tối ở nhiệt độ $-20^\circ C$ không quá 6 tháng. Dung dịch làm việc được bảo quản tương tự với thời gian không quá 2 tháng.

Thiết bị chính sử dụng cho nghiên cứu này bao gồm máy phân tích sắc ký khí ghép nối khối phổ hệ 3 tứ cực GC-MS TQ8040 (Shimadzu, Nhật Bản) với cột mao quản DB5-MS UI (60 m x 0,25 mm x 0,25 μm , Agilent, USA), khí mang Helium độ tinh khiết 99,9995 %; máy siêu âm (Power Sonic 420, Hàn Quốc).

2.2 Phương pháp phân tích

Phương pháp chuẩn bị mẫu theo kỹ thuật QuEChERS

Nghiên cứu này áp dụng quy trình phân tích đồng thời HCBVTV trong rau củ quả với kỹ thuật chuẩn bị mẫu QuEChERS theo đề xuất của AOAC 2007.1 [15]. Trong đó, với lưu ý là hai nền mẫu rau và củ quả do đặc tính nền mẫu khác nhau nên được tiến hành đánh giá riêng biệt trên hai quy trình khác nhau. Cụ thể là, nền mẫu rau chứa nhiều chất màu nên ngoài chất hấp phụ PSA chúng tôi phải bổ sung thêm chất hấp phụ là than hoạt tính (graphitized carbon black - GCB) để loại bỏ ảnh hưởng cản trở của các hợp chất màu.

Quy trình phân tích HCBVTV trong hai đối tượng mẫu là rau xanh và củ quả được biểu diễn ở Hình 1 (trang 120).

Phương pháp phân tích sắc ký khí – ghép nối khối phổ (GC-MS)

Phép phân tích sắc ký (GC) hoạt động với các điều kiện như sau: nhiệt độ buồng bơm mẫu $250^\circ C$, tốc độ dòng 2,5 mL/phút, chương trình nhiệt độ lò cột: nhiệt độ đầu $70^\circ C$, giữ 1 phút, gia nhiệt $10^\circ C$ /phút đến $180^\circ C$, tiếp tục gia nhiệt $5^\circ C$ /phút đến $195^\circ C$, thay đổi tốc độ gia nhiệt $8^\circ C$ /phút đến $219^\circ C$ /phút, giữ trong 5 phút, giảm tốc độ gia nhiệt còn $3^\circ C$ /phút đến $240^\circ C$, tăng tốc độ lên $10^\circ C$ /phút đến $280^\circ C$, giữ trong 10 phút. Tổng thời gian phân tích là 42 phút.

Các điều kiện làm việc của bộ phận khối phổ (MS) được giữ không đổi như sau: nhiệt độ interface $250^\circ C$, điện thế detector 1,2 kV, chế độ ion hóa va chạm điện từ $70 eV$.

Phương pháp đánh giá

Độ tin cậy của phương pháp được đánh giá theo hướng dẫn của Hội đồng Châu Âu (SANTE/11813/2017) [16], bao gồm: khoảng tuyến tính, đường chuẩn và độ chệch của đường chuẩn, ảnh hưởng của nền mẫu (matrix effect – ME), giới

hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ thu hồi, và độ lặp lại.

Để đánh giá độ tuyến tính, xây dựng đường chuẩn (7 mức nồng độ từ 10 đến 1000 ppb) của hỗn hợp các HCBVTV nghiên cứu trên ba nền là dung môi tinh khiết (toluene), nền mẫu rau sạch (rau xà lách trồng tại nhà), và nền mẫu quả sạch (cà chua trồng tại nhà). Nồng độ chất phân tích được định lượng bằng phương pháp đường chuẩn sử dụng chất nội chuẩn. Độ đúng của đường chuẩn xây dựng trên nền mẫu thực được xác định bằng cách tính độ chệch (Δ %) của từng điểm chuẩn (tính lại nồng độ từng điểm chuẩn đã pha dựa vào đường chuẩn đã xây dựng). Độ chệch chấp nhận là < 20 %.

Hiệu quả của quá trình chiết còn được đánh giá thông qua giá trị Độ ảnh hưởng của nền mẫu (matrix effect, ME):

$ME (\%) = (\text{diện tích peak của chất phân tích trên nền mẫu thực} / \text{diện tích chất phân tích trong nền dung môi}) \times 100$. Giá trị ME % đạt yêu cầu nếu nằm trong khoảng 80 - 120 %,

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp được xác định dựa trên tỷ lệ tín hiệu/nhiều nền (S/N). Tiến hành phân tích lặp lại 3 lần mẫu trắng thêm chuẩn ở nồng độ thấp còn có thể xuất hiện tín hiệu của chất phân tích. Xác định giá trị S/N. LOD là giá trị nồng độ thêm chuẩn mà tại đó tỉ lệ S/N = 3. LOQ là giá trị nồng độ mà tại đó tỉ lệ S/N = 10.

Độ đúng (thể hiện qua độ thu hồi, Rev %) và độ lặp lại (thể hiện qua giá trị độ lệch chuẩn tương đối, RSD %) của phương pháp và được xác định bằng việc phân tích lặp lại 3 mẫu xà lách và 3 mẫu cà chua (mẫu trắng) thêm chuẩn ở 3 mức nồng độ thấp (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), vừa (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$), và cao (500 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Độ thu hồi chấp nhận trong khoảng từ 70-120 % và độ lệch chuẩn tương đối RSD < 20 %.

Chất đồng hành δ -HCH được thêm vào từ đầu quy trình phân tích để đánh giá hiệu quả của

quá trình xử lý mẫu. Độ thu hồi chất đồng hành chấp nhận được dao động trong khoảng 70 đến 120 %. Mẫu phân tích có độ thu hồi δ -HCH nằm ngoài khoảng chấp nhận trên sẽ không được dùng để thực hiện các phép đánh giá tiếp theo.

Phương pháp lấy mẫu

Các mẫu rau củ quả được lấy mẫu ngẫu nhiên, tuân theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 9016:2011 về rau quả tươi.

Số lượng các mẫu gồm 9 mẫu rau và 6 mẫu quả, thu thập ở các chợ trên địa bàn Tỉnh Thừa Thiên Huế. Do tính nhạy cảm của kết quả nghiên cứu nên thông tin chi tiết về địa điểm lấy mẫu xin được phép không trình bày.

Phương pháp xử lý số liệu thực nghiệm

Kết quả phân tích sắc ký được xử lý bằng phần mềm LabSolutions (GCMS Solution - Shimadzu); số liệu thực nghiệm được xử lý theo phương pháp thống kê, sử dụng phần mềm Excel 2019.

3 Kết quả và thảo luận

3.1 Hiệu lực hóa quy trình phân tích

Đối với các mẫu nông sản nói chung, do thành phần của nền mẫu rau thường chứa nhiều chất màu và chất xơ trong khi nền củ và quả chứa nhiều nước và protein, vì vậy chúng tôi tiến hành hiệu lực hóa quy trình phân tích trên hai nền mẫu khác nhau là nền rau xanh và nền củ quả.

Khoảng tuyến tính, đường chuẩn, và độ chệch (Δ %) của các HCBVTV nghiên cứu

Các kết quả xây dựng đường chuẩn (7 điểm chuẩn, từ 10 – 1000 ppb), hệ số xác định R^2 , và độ chệch (Δ %) của các chất nghiên cứu được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Đường chuẩn, hệ số xác định (R^2), và độ chệch (Δ %) của đường chuẩn

Chất phân tích	Nền dung môi toluene			Nền rau xanh			Nền quả		
	Phương trình HQT	R^2	Δ %	Phương trình HQT	R^2	Δ %	Phương trình HQT	R^2	Δ %
δ -HCH	$y = 0,0017x - 0,0069$	0,999	4,9	$y = 0,0016x + 0,0215$	0,999	15	$y = 0,0015x + 0,0079$	0,999	5,9
Ace	$y = 0,0087x - 0,0991$	0,999	7,8	$y = 0,0082x - 0,0036$	0,999	4,7	$y = 0,0086x - 0,0705$	0,999	7,0
Chl	$y = 0,0056x - 0,0525$	0,999	5,8	$y = 0,0056x - 0,0053$	0,999	11,3	$y = 0,0056x - 0,0502$	0,999	5,2
Fip	$y = 0,0061x - 0,1216$	0,999	8,3	$y = 0,0056x - 0,1654$	0,999	15,6	$y = 0,0057x - 0,0925$	0,999	7,9
Pre	$y = 0,0102x - 0,164$	0,999	7,0	$y = 0,0103x - 0,1815$	0,999	19,6	$y = 0,0095x - 0,1323$	0,999	6,0
Flu	$y = 0,0255x - 0,2549$	0,999	6,7	$y = 0,0258x - 0,1858$	0,999	15	$y = 0,0261x - 0,2675$	0,999	5,1
Tri	$y = 0,0121x - 0,2402$	0,999	6,6	$y = 0,012x - 0,3207$	0,999	10	$y = 0,0103x - 0,0853$	0,999	5,5
Pro	$y = 0,0064x - 0,2063$	1	5,9	$y = 0,0066x - 0,2235$	0,999	11,6	$y = 0,0064x - 0,1054$	0,999	3,7
Teb	$y = 0,0091x - 0,3666$	0,999	6,6	$y = 0,0102x - 0,4384$	0,999	14,6	$y = 0,0086x - 0,1412$	0,999	5,2
Cyp	$y = 0,0106x + 0,1012$	0,999	6,0	$y = 0,0134x - 0,2446$	0,999	14,3	$y = 0,0101x + 0,0134$	0,999	7,2

δ -HCH - chất đồng hành; Ace - acetochlor; Chl - chlorpyrifos; Fip - fipronil; Pre - pretilachlor; Flu - fluazifop-p-butyl; Tri - trifloxystrobin; Pro - propiconazole; Teb - tebuconazole; Cyp - cypermethrin

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy rằng các đường chuẩn của các HCBVTV nghiên cứu ở cả nền dung môi toluene hay nền mẫu thực (rau sạch và quả sạch) đều cho hệ số xác định tốt ($R^2 > 0,99$). Đồng thời, khoảng tuyến tính của phương pháp khá rộng (từ 10 - 1000 $\mu\text{g/L}$ đối với δ -HCH, acetochlor, pretilachlor, fipronil, chlorpyrifos, và fluazifop-p-butyl, và từ 25 - 1000 $\mu\text{g/L}$ đối với trifloxystrobin, propiconazole, tebuconazole, và cypermethrin). Độ chệch khi tính lại nồng độ các điểm chuẩn từ các phương trình đường chuẩn xây dựng được đều < 20 %, chứng tỏ các đường chuẩn xây dựng được có độ tin cậy cao.

Ảnh hưởng của nền mẫu (matrix effect - ME) đến phép phân tích

Ảnh hưởng của nền mẫu đến phép phân tích được trình bày ở Bảng 2. Kết quả thu được cho thấy các giá trị ME (%) xác định được đều nằm trong khoảng cho phép 80-120 %, chứng tỏ rằng kỹ thuật chiết mẫu QuEChERS cho hiệu quả làm sạch tốt đối với cả hai loại nền mẫu, giúp loại bỏ được các tạp chất gây ra nhiễu nền lớn. Kết quả phân tích thống kê cũng cho thấy không có sự khác biệt thống kê giữa ME ở nền mẫu rau với ME ở nền mẫu quả ($p > 0,05$). Nói cách khác, phép định lượng dựa trên đường chuẩn xây dựng được từ mẫu trắng là đáng tin cậy.

Bảng 2. Kết quả xác định ảnh hưởng của nền mẫu (ME %) từ đường chuẩn xây dựng trên nền dịch chiết mẫu rau sạch và quả sạch không chứa chất phân tích so với nền dung môi toluene

Hoạt chất	ME (%)	
	Nền rau xanh	Nền quả
δ -HCH	117,8	102,3
Ace	119,1	95,2
Chl	105,5	91,0
Fip	80,0	93,7
IS	104,1	100,2
Pre	105,3	110,2
Flu	105,2	90,1
Tri	94,4	98,0
Pro	84,8	107,2
Teb	120,3	120,3
Cyp	96,9	96,5

ME - ảnh hưởng của nền mẫu; δ -HCH - chất đồng hành; Ace - acetochlor; Chl - chlorpyrifos; Fip - fipronil; Pre - pretilachlor; Flu - fluazifop-p-butyl; Tri - trifloxystrobin; Pro - propiconazole; Teb - tebuconazole; Cyp - cypermethrin; IS - chất nội chuẩn pyrene D10

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của phương pháp

Dựa vào các giá trị tỉ lệ tín hiệu/nhiều (S/N), các giá trị LOD và LOQ của các HCBVTV nghiên cứu trong hai nền mẫu rau và quả được tính toán và trình bày ở Bảng 3. Ở nghiên cứu này, tỉ lệ S/N ≥ 5 được lựa chọn để đảm bảo giá trị LOD và LOQ đúng với thực tế phân tích mẫu thực, tức là nồng độ thấp nhất cho tín hiệu phân biệt với nền (LOD) và nồng độ thấp nhất có thể định lượng chính xác được trong mẫu (LOQ).

Kết quả cho thấy phương pháp cho giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng thấp đối với các HCBVTV nghiên cứu, với LOD dao động trong khoảng từ 3 - 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$, tương ứng với LOQ từ 9 - 24 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kết quả này hoàn toàn tương đồng với các công bố của các tác giả trước đây [17-19].

Độ đúng và độ lặp lại của phương pháp

Độ đúng và độ lặp lại của phương pháp được đánh giá qua phân tích mẫu trắng (mẫu rau xà lách và mẫu cà chua sạch, trồng tại nhà) thêm chuẩn lặp lại 3 lần ở các mức nồng độ từ thấp đến cao (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Kết quả được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 3. LOD, LOQ các chất phân tích trên nền mẫu rau xanh và quả

Chất phân tích	Nền rau xanh			Nền quả		
	S/N	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	S/N	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
δ -HCH	7,12	5,0	15,0	5,74	5,0	15,0
Ace	6,45	5,0	15,0	4,02	5,0	15,0
Chl	6,87	5,0	15,0	6,13	5,0	15,0
Fip	7,74	3,0	9,0	5,68	3,0	9,0
Pre	7,68	3,0	9,0	5,63	3,0	9,0
Flu	6,96	5,0	15,0	6,91	5,0	15,0
Tri	6,05	8,0	24,0	5,69	8,0	24,0

Chất phân tích	Nền rau xanh			Nền quả		
	S/N	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)	S/N	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)
Pro	5,64	8,0	24,0	5,64	8,0	24,0
Teb	5,00	8,0	24,0	5,00	8,0	24,0
Cypermethrin	5,00	8,0	24,0	5,00	8,0	24,0

δ -HCH - chất đồng hành; Ace - acetochlor, Chl – chlorpyrifos; Fip – fipronil; Pre – pretilachlor; Flu – fluazifop-p-butyl; Tri – trifloxystrobin; Pro – propiconazole; Teb – tebuconazole; Cyp – cypermethrin

Bảng 4. Độ đúng và độ lặp lại của phương pháp

Chất phân tích	Nồng độ thêm chuẩn ($\mu\text{g/kg}$)	Nền mẫu rau		Nền mẫu quả	
		Rev (%)	RSD (%)	Rev (%)	RSD (%)
δ-HCH	25	70,8	1,1	73,7	11,8
	100	82,0	3,1	88,1	2,7
	500	96,7	8,4	92,4	5,6
Ace	25	80,7	10,7	106,3	6,0
	100	83,7	1,8	86,3	0,9
	500	95,6	6,3	90,8	3,4
Chl	25	81,8	15,9	107,0	13,5
	100	88,7	2,4	91,6	1,2
	500	89,7	2,9	87,1	4,1
Fip	25	111,9	4,8	112,0	5,0
	100	109,6	1,4	80,4	3,2
	500	103,9	3,7	96,8	2,4
Pre	25	112,1	5,3	92,9	10,6
	100	101,2	4,1	95,2	3,0
	500	94,1	3,8	95,2	1,7
Flu	25	94,1	14,2	107,6	12,3
	100	91,7	4,7	88,3	2,9
	500	90,0	5,1	85,2	2,5
Tri	25	112,0	4,6	84,0	13,3
	100	101,5	5,4	89,6	2,2
	500	94,4	2,0	94,6	1,7
Pro	25	111,8	8,4	109,2	4,1
	100	107,9	6,0	88,4	2,5
	500	93,2	5,9	87,8	1,3

Chất phân tích	Nồng độ thêm chuẩn ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Nền mẫu rau		Nền mẫu quả	
		Rev (%)	RSD (%)	Rev (%)	RSD (%)
Teb	25	114,3	3,0	101,7	11,9
	100	107,0	5,1	88,4	4,3
	500	90,2	3,0	94,7	5,6
Cyp	25	105,1	10,5	68,2	9,7
	100	109,0	4,3	107,6	2,2
	500	91,8	5,1	102,9	9,8

δ -HCH - chất đồng hành; Ace – acetochlor; Chl – chlorpyrifos; Fip – fipronil; Pre – pretilachlor; Flu – fluazifop-p-butyl; Tri – trifloxystrobin; Pro – propiconazole; Teb - tebuconazole, Cyp – cypermethrin

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy độ thu hồi của tất cả các chất trên cả hai nền mẫu rau xanh và quả đều nằm trong khoảng quy định cho phép [16]. Độ thu hồi đạt 70-120 % đối với mức nồng độ thêm chuẩn 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$, và 80-110 % đối với mức nồng độ thêm chuẩn 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ và 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Phương pháp cũng đạt độ lặp lại tốt, cụ thể là, ở mức thêm chuẩn 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ có RSD < 16 %, mức thêm chuẩn 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ có RSD < 6 %, và mức thêm chuẩn 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ có RSD < 9.8 %, nhỏ hơn giới hạn cho phép của EU là RSD < 20 % [16].

Các kết quả đánh giá phương pháp ở trên chứng tỏ rằng phương pháp phân tích có độ tin cậy cao, đạt yêu cầu theo quy định của Cộng đồng chung Châu Âu (EU). Nói cách khác, có thể áp dụng phương pháp đề xuất để phân tích dư lượng HCBVTV trong mẫu rau củ quả với kỹ thuật đơn giản, chi phí thấp, ít tiêu tốn dung môi, ít tạo ra chất thải cho môi trường.

3.2 Áp dụng phương pháp phân tích vào mẫu thực tế

Quy trình phân tích đã được áp dụng để phân tích dư lượng HCBVTV trong một số mẫu nông sản thu thập ngẫu nhiên ở các chợ trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế. Kết quả phân tích được trình bày ở Bảng 5, cho thấy:

Trong số 15 mẫu rau củ quả thu thập tại các chợ trên địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế, có 6/15 mẫu bị nhiễm HCBVTV nghiên cứu (chiếm 40 %), bao gồm 5 mẫu rau (cải cay, rau răm, hành lá, súp lơ xanh, và 1 mẫu quả (dưa leo). Dư lượng các HCBVTV phát hiện được dao động trong khoảng từ 36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (acetochlor trong xà lách) đến 386 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (trifloxystrobin trong cải cay).

Trong 9 HCBVTV nghiên cứu, có 7 chất được tìm thấy trong các mẫu rau củ quả thu thập được, 2 chất không phát hiện được trong bất cứ mẫu nào là thuốc trừ sâu fipronil và cypermethrin. Thuốc trừ cỏ pretilachlor được tìm thấy ở 4/6 mẫu nhiễm, chiếm tần số xuất hiện cao nhất.

Trong số các mẫu rau, đáng chú ý có mẫu hành lá với sự phát hiện đồng thời 4 HCBVTV (pretilachlor, fluazifop-p-butyl, trifloxystrobin, propiconazole). Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Châu và cs [20] khi phát hiện ra hành lá canh tác tại Thừa Thiên Huế là loại rau có nguy cơ rủi ro cao về sức khỏe do nhiễm tồn dư HCBVTV với tần suất và nồng độ cao hơn so với các loại rau khác. Việc tồn dư của nhiều HCBVTV trong cùng một mẫu có khả năng gây ra hiện tượng cộng hưởng/hiệp lực độc tính theo như nghiên cứu của Kortenkamp và cs [21], hay nói cách khác là gây nguy cơ rủi ro cao về sức khỏe cho người tiêu dùng nông sản.

Bảng 5. Dư lượng các HCBVTV nghiên cứu trong các mẫu rau củ quả thu thập ở địa bàn tỉnh Thừa Thiên Huế

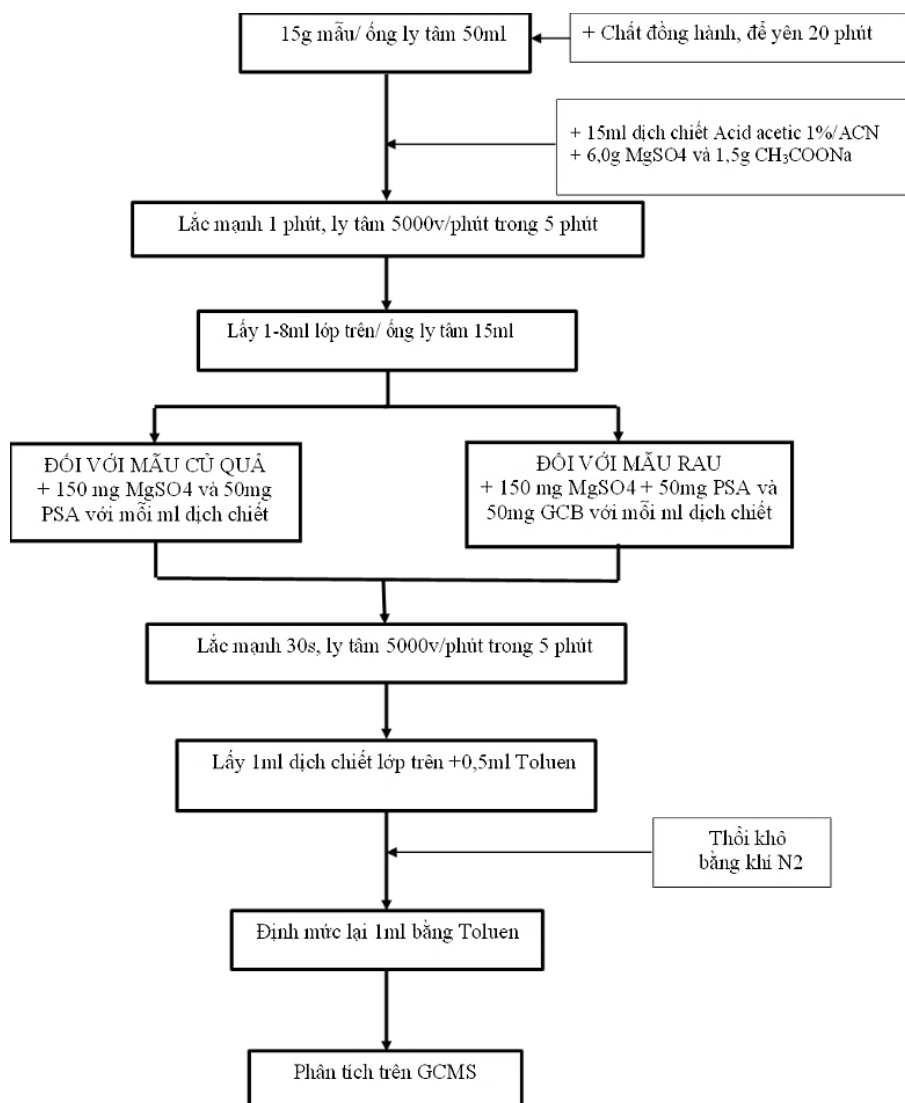
Chất phân tích	Nồng độ xác định được trong mẫu ($\mu\text{g}/\text{kg}$)												
	Cải cay	Rau răm	Xà lách	Hành lá	Xúp lơ xanh	Cải ú	Rau dền	Rau khoai	Su Su	Dưa leo	Táo	Cà chua	Cà rốt
δ -HCH (*) (%)	89,3	81,1	78,3	80,8	74,8	84,7	78,0	70,2	77,1	97,7	76,2	80,8	73,5
Acetochlor	-	-	36,2	-	234,6	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlorpyrifos	-	202,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fipronil	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pretilachlor	41,2	41,3	-	237,7	-	-	-	-	-	55,1	-	-	-
Fluazifop-p-butyl	-	153,7	280,8	60,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trifloxystrobin	385,9	-	204,2	123,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Propiconazole	221,9	-	-	246,8	-	-	-	-	-	224,8	-	-	-
Tebuconazole	-	-	-	-	119,2	-	-	-	-	-	-	-	-
Cypermethrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

δ -HCH - chất đồng hành; Ace - acetochlor, Chl - chlorpyrifos; Fip - fipronil, Pre - pretilachlor; Flu - fluazifop-p-butyl; Tri - trifloxystrobin; Pro - propiconazole, Teb - tebuconazole; Cyp - cypermethrin

4 Kết luận

Việc phân tích đồng thời các HCBVTV trong nông sản là một bước quan trọng trong việc kiểm soát chất lượng và đảm bảo an toàn thực phẩm. Nghiên cứu này sử dụng kỹ thuật chuẩn bị mẫu QuEChERS kết hợp với phương pháp phân tích sắc ký khí ghép nối khối phổ GC-MS để phân tích đồng thời dư lượng 9 HCBVTV, cụ thể là acetochlor, pretilachlor, fipronil, trifloxystrobin, fluazifop-p-butyl, tebuconazole, propiconazole, và cypermethrin trên cả hai nền rau xanh và củ quả. Kết quả thẩm định cho giới hạn phát hiện

thấp, độ đúng, độ lặp lại, và độ tuyến tính tốt. Quy trình cũng đã được áp dụng để phân tích 9 mẫu rau và 6 mẫu củ quả thu thập tại các chợ trên địa bàn thành phố Huế. Kết quả đã phát hiện được dư lượng một số HCBVTV trên 5 mẫu rau và 1 mẫu quả. Trong số các mẫu rau, đáng chú ý có mẫu hành lá với sự phát hiện đồng thời 4 HCBVTV (pretilachlor, fluazifop-p-butyl, trifloxystrobin, propiconazole). Kết quả này chứng minh nguy cơ rủi ro cao cho người tiêu dùng nông sản trên địa bàn. Từ đó, nghiên cứu đề xuất phải tiến hành một chương trình quan trắc trên diện rộng về mức dư lượng các HCBVTV trong nông sản.



Hình 1. Quy trình phân tích HCBVTV áp dụng kỹ thuật QuEChERS kết hợp GC-MS theo đề xuất của AOAC 2007.1

Tài liệu tham khảo

- World Health Organization. Pesticide residues in food; 15 September 2022. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pesticide-residues-in-food#:~:text=There%20are%20more%20than%20100%200,different%20properties%20and%20toxicological%20effects>
- Ikpesu TO, Ariyo AB. Health Implication of Excessive Use and Abuse of Pesticides by the Rural Dwellers in Developing. Greener Journal of Environment Management and Public Safety. 2013;2(5):180-188.
- Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. Annu Rev Public Health. 2004;25:155-97.
- Their HP, Zeumer H. In Manual of pesticide residue analysis Volume I. Germany: Wiley; 1987.
- Fenik J, Tankiewicz M, Biziuk M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. TrAC – Trends in Analytical Chemistry. 2011; 30:814-826.
- Lozowicka B, Rutkowska E, Jankowska M. Influence of QuEChERS Modifications on Recovery and Matrix Effect during the Multi-Residue Pesticide Analysis in Soil by GC/MS/MS and GC/ECD/NPD. Environmental Science and Pollution Research. 2017;24:7124-7138.

7. Alder L, Greulich K, Kempe K, Vieth B. Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS?. *Mass Spectrometry Reviews*. 2006;25:838-865.
8. Grimalt S, Dehouck P. Review of analytical methods for the determination of pesticide residues in grapes. *J Chromatogr. A*. 2016;1433:1-23.
9. Philip LW, Meng CK. A method for the trace analysis of 175 pesticides using the Agilent triple quadrupole GC/MS/MS. Application note. Agilent Technologies, USA; 2009. Available from: <https://www.wateronline.com/doc/a-method-for-the-trace-analysis-of-175-0002>
10. Anastassiades M, Lehotay SJ, Štajnbaher D, Schneck FJ. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*. 2003;86:412-431.
11. Daniele O, Isabel CSFJ. Comparison of Different Sorbents in the QuEChERS Method for the Determination of Pesticide Residues in Strawberries by LC-MS/MS. *Chromatographia*. 2014;77:1291-1298.
12. European Committee for Standardization EN 15662:2008. Foods of Plant Origin–Determination of Pesticide Residues Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE-QuEChERS method. 2008.
13. Miguel AGC, Diana AVM, Diego ARH. Pesticide-Residue Analysis in Soils by the QuEChERS Method: A Review. *Molecules*. 2022;27:4323.
14. Phạm TL. Nghiên cứu phát triển kỹ thuật QuEChERS GC/MS 3 sim để phân tích đồng thời dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật trong đất [dissertation]. Hà Nội: Viện Hàn lâm khoa học và công nghệ Việt Nam; 2013.
15. AOAC International. AOAC Official Method 2007.01 Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate; 2007. Available from: https://nucleus.iaea.org/sites/fcris/Shared%20Documents/SOP/AOAC_2007_01.pdf
16. European Commission. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed, SANTE/11813/2017; 2017. Available from: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf
17. Klaudia P, Nasir S, Hanna B. A simple approach for pesticide residues determination in green vegetables based on QuEChERS and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2022;114:104783.
18. Maciej T, Andrzej B. Improvement of the QuEChERS method coupled with GC-MS/MS for the determination of pesticide residues in fresh fruit and vegetables. *Microchemical Journal*. 2022; 181:107794.
19. Seo YH, Cho TH, Hong CK, Kim MS, Cho SJ, Park WH, et al. Monitoring and risk assessment of pesticide residues in commercially dried vegetables. *Preventive Nutrition and Food Science*. 2013; 18(2):145-149.
20. Nguyen DGC C, Le DBC, Nguyen VH, Hoang TL, Tran TVT, Huynh TPL. Assessment of pesticide use and pesticide residues in vegetables from two provinces in Central Vietnam. *PLoS ONE*. 2022; 17(6): e0269789.
21. Kortenkamp A, Backhaus T, Faust M. State of the art report on mixture toxicity. European Commission 070307/2007/485103/ETU/D.1; 2009.