

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH ĐƯ LƯỢNG MỘT SỐ HÓA CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG ĐẤT VÀ RAU, CỦ, QUẢ ÁP DỤNG KỸ THUẬT QUECHERS KẾT HỢP GC-MS/MS

Nguyễn Đăng Giảng Châu¹, Nguyễn Trương Nhật Ni², Nguyễn Thị Hồng^{1,2*}

¹Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học, Đại học Huế, TP. Huế

²Công ty TNHH DV KHCN Khuê Nam, TP. Hồ Chí Minh

*Email: nthong.dhkh25@hueuni.edu.vn

Ngày nhận bài: 14/8/2024; Ngày nhận bài sửa: 09/10/2024; Ngày chấp nhận đăng: 06/3/2025

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, hiệu quả của phương pháp phân tích dư lượng một số hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) trong nền mẫu đất, rau (cải xanh), củ (khoai tây), và quả (cà chua, chanh dây, bí đao) đã được thực hiện theo hướng dẫn đánh giá phương pháp của AOAC và SANTE/ 2019/12682. Các HCBVTV nghiên cứu bao gồm cypermethrin, BHC (alpha), fenprothrin, heptachlor, ethion, và 4,4'-DDT. Nghiên cứu này sử dụng phương pháp chiết QuEChERS kết hợp với kỹ thuật sắc ký khí nối với khối phổ ba tứ cực (GC-MS/MS) để phân tích. Kết quả cho thấy phương pháp có khoảng tuyến tính rộng từ 10 – 100 µg/L trên ba nền mẫu đại diện là nền mẫu dung môi n-hexane, nền cải xanh, và nền cà chua. Ảnh hưởng nền mẫu thấp (< 20%). Trong mẫu rau củ quả, giới hạn định lượng của các chất nghiên cứu thấp, dao động từ 0,011 – 0,017 mg/kg, trong mẫu đất dao động từ 0,022 – 0,032 mg/kg. Phương pháp phân tích đáp ứng các tiêu chí về độ đúng và độ lặp lại theo chuẩn AOAC, với độ đúng nằm trong khoảng 80–110% và độ lặp lại (RSDr) nhỏ hơn 15%. Phương pháp này có thể được áp dụng để phân tích đồng thời các HCBVTV có tính chất tương tự trong các nền mẫu nông sản và môi trường với độ nhạy và độ chính xác cao.

Từ khóa: QuEChERS, GC-MS/MS, hóa chất bảo vệ thực vật, phân tích dư lượng, mẫu đất, mẫu rau củ quả.

1. MỞ ĐẦU

Hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) từ lâu đã được sử dụng rộng rãi trong sản xuất nông nghiệp để nâng cao năng suất, trừ dịch hại và bảo vệ mùa màng. Theo Tổ chức Lương Nông Liên hiệp quốc (FAO), ước tính trong năm 2022, số lượng HCBVTV được sử dụng trên toàn thế giới là 3,7 triệu tấn, và con số này ở Việt Nam là hơn 160 ngàn tấn (chiếm 4,4% tổng lượng HCBVTV tiêu thụ trên thế giới) [1]. Con đường vận chuyển HCBVTV sau khi phun sẽ bao gồm hai hướng chính: (i) đi vào môi trường - nơi chúng trải qua quá trình phân hủy sinh học hoặc hóa học theo thời gian; (ii) lưu lại trên bề mặt hoặc trong các mô của cây trồng dưới dạng tồn dư, gây nguy cơ tiềm ẩn đến chất lượng nông sản và sức khỏe môi trường nếu không được quản lý đúng cách. Việc sử dụng không hợp lý và quá mức các hóa chất này trong quá trình canh tác nông nghiệp [2]–[5] đã dẫn đến hệ lụy tồn dư của HCBVTV trong nông sản [6]–[9], trong đất [10]–[13], v.v. Tồn dư cao HCBVTV trong nông sản và môi trường đã dẫn đến những rủi ro tiềm ẩn do HCBVTV mang lại cho sức khỏe con người, nhẹ thì chóng mặt, buồn nôn, viêm phổi, nặng thì ung thư, rối loạn nội tiết, biến dị bào thai, v.v. [14]–[18].

Việt Nam là một quốc gia nông nghiệp, tuy nhiên, cho đến nay số lượng nghiên cứu về phân tích tồn dư HCBVTV trong đất hay trong rau củ quả còn hạn chế. Một nghiên cứu của nhóm tác giả Bùi Thị Nga và Lâm Quốc Việt tại Vĩnh Long đã áp dụng kỹ thuật chiết pha rắn kết hợp kỹ thuật phân tích sắc ký khí ghép nối khối phổ GC-MS nghiên cứu tồn dư thuốc trừ sâu trên rau xà lách xoong. Kết quả thu được là dư lượng hoạt chất cypermethrin trên rau dao động từ 0,01 đến 0,166 mg/kg và trong đó đặc biệt đồng phân alpha-cypermethrin phát hiện tồn dư ở mức từ 0,054 đến 0,99 mg/kg [19]. Áp dụng kỹ thuật tương tự, Hoài và cộng sự đã phát hiện tồn dư ở mức cao của fenobucarb, trichlorfon, cyfluthrin

và cypermethrin trên các mẫu rau, trà và đất thu thập tại xã Hoàng Liệt và xã Minh Đài thuộc thành phố Hà Nội [20].

Ngoài các kỹ thuật chiết tách HCBVTV thông thường, phương pháp QuEChERS được đề xuất năm 2003 và từ đó trở đi đã trở nên ngày càng phổ biến [21]. Đáng lưu ý, phương pháp này kết hợp kỹ thuật chiết dung môi với kỹ thuật chiết phân tán d-SPE, trong đó việc sử dụng hợp chất PSA - Primary Secondary Amine mang lại hiệu quả chiết rất cao. Phương pháp cho nhiều ưu điểm như cách tiến hành đơn giản, sử dụng ít dung môi và hóa chất độc hại, chiết đồng thời và tiết kiệm thời gian. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu áp dụng thành công kỹ thuật QuEChERS, điển hình như nghiên cứu của Ghaith Radwan Algharibeh và Malik Salah AlFararjeh vào 2019 phân tích 113 HCBVTV bằng phương pháp LC-MS/MS trên 158 mẫu rau và trái cây được trồng ở Jordan [22]. Kết quả thu được có 85 mẫu phát hiện có HCBVTV, trong đó 34 (22%) mẫu vượt quy định. Hay nghiên cứu về tối ưu hóa phương pháp sàng lọc 485 HCBVTV bằng QuEChERS kết hợp LC-QTOF trong rau và trái cây được công bố năm 2018 nhóm tác giả Trung Quốc đã chứng minh khả năng phát hiện cực nhạy của kỹ thuật này để sàng lọc dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong 12.551 sản phẩm nông nghiệp từ 638 điểm lấy mẫu ở 284 quận trên 31 tỉnh và thành phố từ năm 2012 đến năm 2015 [23]. Một nghiên cứu dư lượng HCBVTV của tác giả người Phần Lan năm 2017, số mẫu nghiên cứu là 144 mẫu (cà chua, quả mâm xôi, cherry, dâu tây, mâm xôi đen, súp lơ trắng và súp lơ xanh), được tách chiết bằng kỹ thuật QuEChERS và phân tích trên LC-MS/MS để xác định 60 hoạt chất, trong đó 15 hoạt chất được phát hiện trong 46 mẫu, chủ yếu là diệt nấm và côn trùng [24]. Hay ở Việt Nam, có nhóm tác giả Nguyễn Thị Hà My và cộng sự đã áp dụng thành công kỹ thuật tách chiết này để phân tích đồng thời 187 HCBVTV trong mẫu rau quả bằng kỹ thuật LC-QTOF, giới hạn phương pháp đạt được là 3 µg/kg, hiệu suất thu hồi dao động từ 74,4-118%, độ lặp lại RSD < 20% [25].

Từ bối cảnh nêu trên, nghiên cứu này trình bày kết quả của việc áp dụng kỹ thuật QuEChERS kết hợp với sắc ký khí ghép nối 2 lần khối phổ (GC-MS/MS) để phân tích đồng thời dư lượng một số HCBVTV đại diện cho các nhóm khác nhau bao gồm nhóm cơ clo (4,4'-DDT, BHC (alpha), heptachlor), nhóm cơ phospho (ethion), và nhóm pyrethroid (cypermethrin, fenpropathrin) trong nhiều nền mẫu rau củ quả và mẫu đất. Kết quả của nghiên cứu này có thể dùng để phục vụ công tác kiểm soát và đánh giá tồn dư HCBVTV trong thực phẩm và môi trường.

2. NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Hóa chất sử dụng bao gồm acetonitrile (99,8%, HPLC Grade, Fisher), acid formic (98%, Merck), n-hexane (98,5%, HPLC Grade, Fisher), MgSO₄ (Scharlau), CH₃COONa (Scharlau), bột PSA - Primary Secondary Amine (Silicycle), bột C18 (Silicycle), NaCl (Scharlau).

Các chất chuẩn HCBVTV cypermethrin, BHC (alpha), fenpropathrin, heptachlor, ethion, 4,4'-DDT, nội chuẩn triphenylphosphate (TPP) (PESTANAL, analytical grade, Sigma Aldrich, USA) có chứng chỉ công nhận. Chuẩn trung gian được pha trong dung môi acetonitrile bảo quản ở nhiệt độ -20 °C trong vòng 3 tháng kể từ ngày pha.

Thiết bị phân tích máy sắc ký khí ghép đầu dò khối phổ ba tứ cực GC-MS/MS Thermo Scientific TSQ Duo, cột TG-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Thermo Scientific). Các thiết bị phụ trợ khác như máy lắc, máy ly tâm, máy vortex.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp chiết QuEChERS

Nghiên cứu này tham khảo quy trình và kỹ thuật xử lý mẫu QuEChERS theo AOAC 2007.01 có điều chỉnh [21]. Tóm tắt quy trình như sau:

Chuẩn bị mẫu: Mẫu ban đầu (1 kg) được đồng hóa và lấy khoảng 200 g làm mẫu phân tích. Cân 10 g mẫu vào ống teflon 50 mL. Thêm 10 mL acetonitrile với 1% acid acetic, 1,5 g sodium acetate khan, 6 g MgSO₄ khan và 200 µL dung dịch nội chuẩn (TPP, 1 mg/L). Lắc mạnh hỗn hợp trong 30 phút, sau đó ly tâm với tốc độ 1500 rpm. Lấy 5 mL dịch chiết, thêm 150 mg MgSO₄ khan, 400 mg PSA, 400 mg

C18 để hấp thụ và lắc trong 15 phút. Ly tâm lại mẫu với tốc độ 1500 rpm. Lấy 1 mL dịch chiết chuyển vào ống ly tâm 15 mL có sẵn 1 mL n-hexane, lắc đều bằng tay khoảng 5 phút, ly tâm. Sau đó lọc lớp n-hexane cho vào vial GC và tiến hành phân tích trên thiết bị GC-MS/MS.

2.2.2. Phương pháp sắc ký GC-MS/MS

Đối với phép định lượng trên thiết bị phân tích sắc ký: sử dụng khí mang Helium, tốc độ dòng là 1,2 mL/phút, chế độ tiêm không chia dòng, nhiệt độ buồng tiêm là 250 °C. Áp dụng chương trình gradient nhiệt độ như sau: Nhiệt độ đầu cột 60 °C, giữ 1 phút. Gia nhiệt đến 120 °C với tốc độ 25 °C/phút, giữ 5 phút. Tiếp tục gia nhiệt đến 200 °C với tốc độ 20 °C /phút, giữ 5 phút. Gia nhiệt đến 220 °C với tốc độ 5 °C /phút, giữ 5 phút. Tiếp tục gia nhiệt đến 280 °C với tốc độ 5 °C /phút, giữ 5 phút.

Điều kiện khối phổ: Sử dụng kiểu ion hóa EI, nhiệt độ ion source 150 °C, nhiệt độ transferline 280 °C, capillary 0,7 kV, cone 39,0V, extractor 3,0V, RF lens: 0,1V, cone gas flow: 25 L/Hr, desolvation gas flow: 725 L/Hr.

2.2.3. Phương pháp đánh giá

Độ tin cậy của phương pháp được tiến hành theo hướng dẫn của Hội đồng châu Âu (SANTE/2019/12682) [26] và Hiệp hội các nhà hoá phân tích chính thống (AOAC, Appendix F), bao gồm các yếu tố sau: độ tuyến tính của đường chuẩn (đánh giá thông qua giá trị hệ số xác định R^2), giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp (đánh giá qua độ lệch chuẩn của mẫu trắng thêm chuẩn), ảnh hưởng của nền mẫu (matrix effect – ME) (đánh giá qua 3 nền mẫu khác nhau), độ thu hồi, độ lặp lại (đánh giá qua mẫu thêm chuẩn) [27, 28].

- Xây dựng đường chuẩn:

Tiến hành xây dựng các đường chuẩn của các HCBVTV nghiên cứu ở 6 mức nồng độ từ 10, 20, 40, 60, 80, 100 µg/L, sử dụng dung môi tinh khiết n-hexane để đối chứng, và hai nền mẫu trắng bao gồm nền mẫu rau cải xanh và nền mẫu cà chua trồng tại vườn, được tách chiết theo đúng quy trình AOAC 07.01 nêu trên. Rau cải đại diện cho mẫu nhiều tạp chất có màu, cà chua đại diện cho mẫu nhiều acid và nước, n-hexane được sử dụng thay cho nền mẫu đất.

Đường chuẩn có dạng: $y = a + bx$

Trong đó: $x = CA$; $y = S_A/S_{IS}$

CA là nồng độ của chất phân tích

S_A , S_{IS} lần lượt là diện tích peak chất phân tích và chất nội chuẩn

Độ chệch ($\Delta\%$) của từng điểm chuẩn được tính lại từ đường chuẩn xây dựng được với yêu cầu $\Delta\% < 15\%$.

- Ảnh hưởng của nền mẫu:

Sự ảnh hưởng của các tạp chất trong nền mẫu sau khi chiết được đánh giá qua công thức:

$$ME\% = \frac{\frac{\text{Diện tích peak của chất phân tích trên nền mẫu thực}}{\text{Diện tích peak nội chuẩn}}}{\frac{\text{Diện tích chất phân tích trong nền dung môi}}{\text{Diện tích peak nội chuẩn}}} \times 100\% \quad (1)$$

Trong đó kì vọng ME% nằm trong khoảng 80 - 120% [28].

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

Đối với các nền mẫu nghiên cứu (rau cải, cà chua, bí đao, chanh dây, khoai tây, và đất), tiến hành phân tích lặp lại 3 lần mẫu trắng (trồng tại vườn hoặc mua ở cửa hàng rau sạch, và chứng minh không nhiễm HCBVTV khi phân tích trên thiết bị GC-MS/MS), thêm chuẩn ở nồng độ 0,015 mg/kg, sau đó xác định giá trị độ lệch chuẩn của phép đo (SD). Giá trị LOD được tính theo công thức:

$$LOD = 3 \times SD \quad (2)$$

$$\text{và giá trị LOQ tương ứng là: } LOQ = 10 \times SD. \quad (3)$$

- Độ đúng và độ lặp lại của phương pháp.

Ở nghiên cứu này, độ đúng được đánh giá qua độ thu hồi khi phân tích lặp lại 3 lần mẫu nền (rau cải, cà chua, bí đao, chanh dây, khoai tây và đất) đã được thêm chuẩn 0,015 mg/kg. Độ thu hồi (Rev) được tính theo công thức:

$$Rev\% = \frac{C_{m+c} - C_m}{C_c} \quad (4)$$

Trong đó: C_{m+c} là nồng độ HCBVTV nghiên cứu trong mẫu nền thêm chuẩn;
 C_m là nồng độ HCBVTV nghiên cứu trong mẫu nền;
 C_c là nồng độ HCBVTV nghiên cứu thêm chuẩn vào mẫu nền.

Từ đó, xác định độ lệch chuẩn tương đối (RSDr %) của phép phân tích trên từng nền mẫu, giá trị này thể hiện độ lặp lại của phương pháp.

Độ thu hồi đáp ứng được tiêu chuẩn SANTE và AOAC đề cập ở trên phải trong khoảng từ 80 - 110% và độ lặp lại RSDr < 20% [27].

2.2.4. Phương pháp xử lý số liệu

Phần mềm Tracefinder 4.1 ELS được sử dụng để phân tích sắc ký đồ.

Các phương pháp phân tích thống kê được tiến hành trên phần mềm Excel 2019.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đường chuẩn của các HCBVTV nghiên cứu

Các đường chuẩn của 6 HCBVTV nghiên cứu trên 3 nền mẫu đại diện là dung môi n-hexane, rau cải xanh, và cà chua lần lượt được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Đường chuẩn các chất phân tích trên các nền khảo sát khác nhau

Chất phân tích	Đường chuẩn trên nền n-hexane			Đường chuẩn trên nền rau cải xanh			Đường chuẩn trên nền quả cà chua		
	Phương trình hồi quy tuyến tính	R ²	Δ%	Phương trình hồi quy tuyến tính	R ²	Δ%	Phương trình hồi quy tuyến tính	R ²	Δ%
4,4'-DDT	$y = 0,115x + 0,192$	0,9985	3,5	$y = 0,110x + 0,066$	0,9988	6,8	$y = 0,110x + 0,034$	0,9997	7,6
BHC (alpha)	$y = 0,025x + 0,039$	0,9986	6,5	$y = 0,027x + 0,006$	0,9979	11,9	$y = 0,030x + 0,044$	0,9985	13,7
Heptachlor	$y = 0,027x + 0,017$	0,9984	3,2	$y = 0,028x + 0,039$	0,9995	6,4	$y = 0,032x + 0,011$	0,9987	8,7
Cypermethrin	$y = 0,043x + 0,062$	0,9951	8,1	$y = 0,043x + 0,0004$	0,9992	7,2	$y = 0,045x + 0,062$	0,9997	4,5
Fenpropathrin	$y = 0,010x + 0,019$	0,9992	6,2	$y = 0,010x + 0,0004$	0,9995	6,2	$y = 0,011x + 0,009$	0,9999	5,7
Ethion	$y = 0,033x + 0,034$	0,9996	2,7	$y = 0,035x + 0,054$	0,9988	14,9	$y = 0,036x + 0,091$	0,9982	14,5

Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính từ 10 – 100 µg/L của các HCBVTV cypermethrin, BHC (alpha), fenpropathrin, heptachlor, ethion, 4,4'-DDT ở các bảng trên cho thấy đường chuẩn được dựng trên nền dung môi n-hexane, rau cải xanh, cà chua đều cho hệ số R² đạt ≥ 0,99. Đối với đường chuẩn dựng trên nền mẫu thật, các điểm có nồng độ thấp như 10 µg/L bị ảnh hưởng bởi nền mẫu nhiều dẫn đến độ chệch Δ% cao hơn so với điểm chuẩn có nồng độ tương đương trên nền dung môi n-hexane. Ở các điểm chuẩn có nồng độ lớn hơn cho sự ổn định tốt hơn. Đồng thời kết quả cho thấy sự khác biệt giữa đường chuẩn dựng trên nền rau cải xanh và nền quả cà chua đối với các HCBVTV được khảo sát là không đáng kể.

Từ kết quả này, đường chuẩn xây dựng trên nền n-hexane sẽ được sử dụng cho các tính toán liên quan đến mẫu đất, đường chuẩn trên nền cải xanh được sử dụng cho mẫu rau cải, khoai tây, bí đao, đường chuẩn trên nền cà chua được sử dụng cho mẫu cà chua và chanh dây.

3.2. Ảnh hưởng nền mẫu (Matrix Effect)

Ảnh hưởng của nền mẫu đến chất phân tích được thể hiện thông qua thông số ME%. Việc dựng chuẩn trực tiếp trên nền mẫu có thể loại bỏ những ảnh hưởng của nền mẫu đối với chất phân tích nhưng vẫn đảm bảo độ chính xác của phương pháp.

Kết quả trong Bảng 2 cho thấy ảnh hưởng của nền mẫu nằm trong khoảng cho phép ($\pm 20\%$ theo [28]).

Bảng 2. Ảnh hưởng nền mẫu của việc dựng chuẩn trên nền rau cải xanh, quả cà chua so với dựng chuẩn trên dung môi n-hexane

Matrix Effect (ME%)		
Chất phân tích	Nền rau cải xanh	Nền quả cà chua
4,4'-DDT	93,5	94,2
BHC (alpha)	108,4	115,7
Heptachlor	116,3	115,2
Cypermethrin	103,6	105,4
Fenpropathrin	108,7	116,2
Ethion	104,0	105,1

3.3. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Thực hiện thêm các chuẩn ở mức nồng độ 0,015 mg/kg trên mẫu rau cải xanh, chanh dây, cà chua, khoai tây, bí đao, và 0,030 mg/kg trên mẫu đất trồng. Xử lý mẫu theo quy trình phân tích, tiến hành lặp lại 3 lần trên mỗi nền mẫu để xác định giá trị LOD và LOQ dựa trên độ lệch chuẩn (SD) theo các phương trình (Eq2 và Eq3). Kết quả xác định LOD và LOQ của 06 HCBVTV nghiên cứu được trình bày ở Bảng 3.

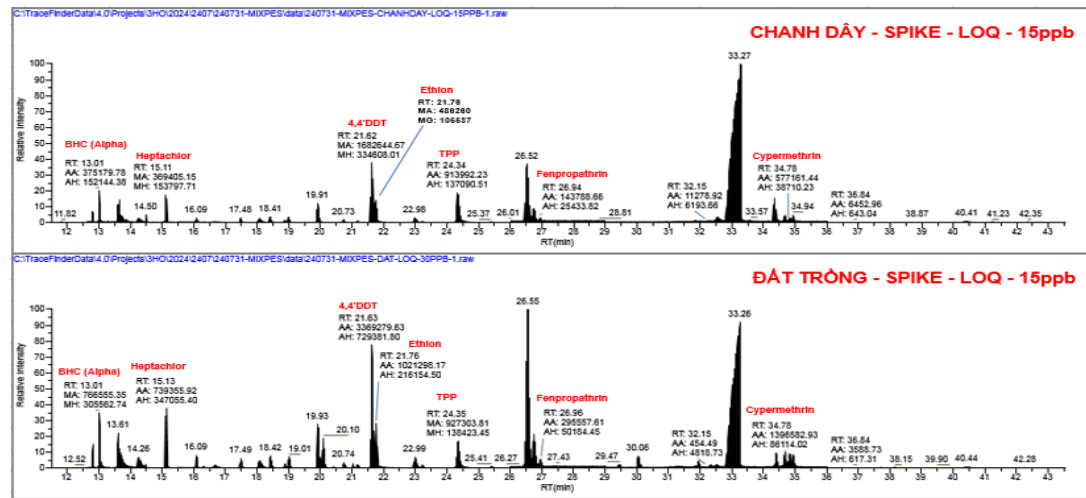
Bảng 3. Giá trị LOD (mg/kg), LOQ (mg/kg) của các HCBVTV nghiên cứu trên từng nền mẫu

	Nền mẫu	Rau cải xanh	Chanh dây	Cà chua	Khoai tây	Bí đao	Đất trồng
4,4'-DDT	LOD	0,0033	0,0048	0,0037	0,0049	0,0040	0,0086
	LOQ	0,011	0,016	0,012	0,016	0,013	0,029
BHC (alpha)	LOD	0,0045	0,0035	0,0046	0,0045	0,0040	0,0065
	LOQ	0,015	0,012	0,015	0,015	0,013	0,022
Cypermethrin	LOD	0,0033	0,0048	0,0037	0,0049	0,0040	0,0086
	LOQ	0,011	0,016	0,012	0,016	0,013	0,029
Heptachlor	LOD	0,0033	0,0048	0,0037	0,0049	0,0040	0,0095
	LOQ	0,011	0,016	0,012	0,016	0,013	0,032
Ethion	LOD	0,0036	0,0049	0,0036	0,0036	0,0044	0,0072
	LOQ	0,012	0,016	0,012	0,016	0,013	0,024

Kết quả cho thấy phương pháp phân tích có độ nhạy tốt, thể hiện qua giới hạn phát hiện (LOD) thấp. Đối với nền rau, củ quả, LOD nằm trong khoảng từ 0,003-0,008 mg/kg, tương ứng với LOQ nằm trong khoảng từ 0,011-0,016 mg/kg.

Thêm vào đó, hình ảnh sắc ký đồ của nền mẫu chanh dây và đất trồng thêm chuẩn 0,015 mg/kg được thể hiện ở Hình 1.

Kết quả ở Hình 1 cho thấy thời gian lưu đặc trưng của từng chất phân tích được tách biệt hoàn toàn khỏi nhau, cường độ tín hiệu cao với mức nồng độ khá thấp (0,015 mg/kg), chứng tỏ phương pháp có độ phân giải tốt và độ nhạy cao đối với các chất phân tích.



Hình 1. Sắc ký đồ mẫu thêm chuẩn trên nền chanh dây và đất trồng

Các kết quả này gần tương đương với kết quả thẩm định phương pháp của nhóm tác giả trong nước là Hà My và cộng sự [25] hay của nhiều nghiên cứu quốc tế khác [29]–[31]. Đồng thời độ nhạy này cao hơn so với các nghiên cứu trước đây khi không sử dụng kỹ thuật chiết mẫu QuEChERS hoặc sử dụng các phép phân tích sắc ký với detector kém nhạy hơn [32]–[34].

3.4. Độ lặp lại (RSDr%) và Hiệu suất thu hồi (H%)

Độ đúng (đánh giá qua hiệu suất thu hồi mẫu thêm chuẩn) và độ lặp lại (đánh giá qua RSDr) của phương pháp phân tích được trình bày ở Bảng 4.

Bảng 4. Độ lặp lại (RSDr%) và độ đúng (H%) của các HCBVTV trên từng nền mẫu

Chất phân tích	Nền rau cải xanh		Nền chanh dây		Nền cà chua	
	RSDr%	H%	RSDr%	H%	RSDr%	H%
4,4'-DDT	7,84	94,5	11,3	94,8	8,54	97,5
BHC (alpha)	9,41	99,5	8,54	91,1	10,83	94,9
Heptachlor	5,91	88,4	8,91	98,3	10,47	96,4
Cypermethrin	9,30	93,2	9,67	89,1	8,97	99,7
Fenpropathrin	7,92	100,9	11,8	91,7	9,10	88,4
Ethion	9,14	95,4	9,86	99,0	8,44	94,7
Chất phân tích	Nền khoai tây		Nền bí đao		Nền đất trồng	
	RSDr%	H%	RSDr%	H%	RSDr%	H%
4,4'-DDT	11,4	95,2	9,55	95,0	10,41	92,7
BHC (alpha)	10,6	95,0	9,47	94,6	7,50	95,8
Heptachlor	10,9	88,9	8,55	96,7	9,18	97,0
Cypermethrin	11,7	95,9	12,5	92,3	10,77	98,4
Fenpropathrin	8,54	93,4	10,03	97,5	8,53	93,9
Ethion	8,27	98,9	9,88	93,4	8,74	95,2

Kết quả cho thấy phương pháp đạt được độ đúng và độ lặp lại rất tốt đối với cả 6 chất nghiên cứu trên đa dạng các nền mẫu rau cải, cà chua, bí đao, chanh dây, khoai tây và đất, thêm chuẩn ở mức nồng

độ 0,015 mg/kg. Hiệu suất thu hồi đạt 88 - 101% và độ lặp lại RSDr < 12%, hoàn toàn thỏa mãn yêu cầu quy định ở SANTE/11813/2019 [26]. Đồng thời, không có sự khác biệt có ý nghĩa về mặt thống kê ($p > 0,05$) về các giá trị độ đúng và độ lặp lại giữa các chất hay giữa các nền mẫu khác nhau. Hay nói cách khác, các kết quả này chứng tỏ tiềm năng ứng dụng cao của phương pháp phân tích này cho đa dạng các nền mẫu cũng như các đối tượng chất nghiên cứu.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp xử lý mẫu QuEChERS kết hợp kỹ thuật phân tích GC-MS/MS đạt được độ tin cậy cao khi phân tích đồng thời 6 HCBVTV trong rau, củ, quả và trong đất với khoảng tuyến tính rộng (10 – 100 $\mu\text{g/L}$) trên nền mẫu dung môi, mẫu rau cải xanh và mẫu cà chua. Phương pháp cho giới hạn định lượng khá thấp (dao động từ 0,011 mg/kg – 0,017 mg/kg đối với các chất nghiên cứu trong nền mẫu rau củ quả, và dao động từ 0,022 – 0,032 mg/kg trong nền mẫu đất). Phương pháp đạt được độ đúng và độ lặp lại tốt đối với cả 6 chất trên các nền mẫu rau cải, cà chua, bí đao, chanh dây, khoai tây (thêm chuẩn ở mức nồng độ 0,015 mg/kg) và đất (thêm chuẩn ở mức nồng độ 0,030 mg/kg). Hiệu suất thu hồi đạt 80 - 110% và độ lặp lại RSDr < 12%, thỏa mãn yêu cầu quy định ở SANTE/11813/2019 [26] và AOAC [27]. Kết quả chứng minh được độ tin cậy của phương pháp phân tích, hay nói cách khác là tiềm năng áp dụng cho các phòng thí nghiệm kiểm định có trang bị thiết bị thích hợp để phân tích và đánh giá tồn dư HCBVTV trong thực phẩm và môi trường.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Đề tài cấp Bộ Giáo dục và Đào tạo với Mã số: B2025-DHH-05.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Food and Agriculture Organization, “FAOSTAT - Pesticides Use,” 2022. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/RP> (accessed Jul. 21, 2024).
- [2] Puspitasari, A. M. Kiloes, Hardiyanto, and A. Sulistyaningrum, “Farmer’s behavior in using pesticides on shallots cultivation in Solok Highlands, West Sumatera,” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 399, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1755-1315/399/1/012116.
- [3] T. Rivai, J. Amin, and N. Pertiwi, “Pesticides Usage in Vegetable Farmers in South Sulawesi,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1244, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1742-6596/1244/1/012024.
- [4] P. T. T. Huong, A. P. Everaarts, J. J. Neeteson, and P. C. Struik, “Vegetable production in the Red River Delta of Vietnam. I. Opportunities and constraints,” *NJAS - Wageningen J. Life Sci.*, vol. 67, pp. 27–36, 2013, doi: 10.1016/j.njas.2013.09.002.
- [5] B. T. Mengistie, A. P. J. Mol, and P. Oosterveer, “Pesticide use practices among smallholder vegetable farmers in Ethiopian Central Rift Valley,” *Environ. Dev. Sustain.*, vol. 19, no. 1, pp. 301–324, 2017, doi: 10.1007/s10668-015-9728-9.
- [6] T. M. Mac Loughlin *et al.*, “Pesticide residues in fruits and vegetables of the argentine domestic market: Occurrence and quality,” *Food Control*, vol. 93, pp. 129–138, 2018, doi: 10.1016/j.foodcont.2018.05.041.
- [7] N. Asiah, W. David, Ardiansyah, and S. Madonna, “Review on pesticide residue on rice,” *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 379, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1755-1315/379/1/012008.
- [8] L. Yegrem, “Review on pesticide residues levels in fruits , vegetables , cereals and legumes food products in Ethiopia,” *J. Curr. Res. Food Sci.*, vol. 1, no. 2, pp. 53–59, 2020.
- [9] J. H. Syed *et al.*, “Pesticide residues in fruits and vegetables from Pakistan: a review of the occurrence and associated human health risks,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 21, no. 23, pp. 13367–13393, 2014, doi: 10.1007/s11356-014-3117-z.
- [10] B. Gevao, K. T. Semple, and K. C. Jones, “Bound pesticide residues in soils: A review,” *Environ. Pollut.*, vol. 108, no. 1, pp. 3–14, 2000, doi: 10.1016/S0269-7491(99)00197-9.
- [11] J. M. Bonmatin *et al.*, “Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 22, no. 1, pp. 35–67, 2015, doi: 10.1007/s11356-014-3332-7.
- [12] F. Ghanbari, S. Masoud, M. Kiani, and R. Rahimi, “Pesticide in Soil and Rice Crop from North

- of Iran: Concentration and Risk Assessment,” *Adv. J. Chem. A*, vol. 3, no. 2, pp. 211–220, 2020, doi: 10.33945/sami/ajca.2020.2.9.
- [13] Q. Mahmood, M. Bilal, and S. Jan, “Herbicides, Pesticides, and Plant Tolerance: An Overview,” in *Emerging Technologies and Management of Crop Stress Tolerance: Biological Techniques*, vol. 1, P. Ahmad and S. Rasool, Eds. Elsevier Inc., 2014, pp. 423–448.
- [14] T. O. Ikpesu and A. B. Ariyo, “Health Implication of Excessive Use and Abuse of Pesticides by the Rural Dwellers in Developing Countries: The Need for Awareness,” *Greener J. Environ. Manag. Public Saf.*, vol. 2, no. 5, pp. 180–188, 2017, doi: 10.15580/gjemps.2013.5.071113721.
- [15] A. Nougadère *et al.*, “Dietary exposure to pesticide residues and associated health risks in infants and young children – Results of the French infant total diet study,” *Environ. Int.*, vol. 137, no. August 2019, p. 105529, 2020, doi: 10.1016/j.envint.2020.105529.
- [16] M. C. R. Alavanja, J. A. Hoppin, and F. Kamel, “Health Effects of Chronic Pesticide Exposure: Cancer and Neurotoxicity,” *Annu. Rev. Public Health*, vol. 25, no. 1, pp. 155–197, 2004, doi: 10.1146/annurev.publhealth.25.101802.123020.
- [17] E. D. Okoffo, M. Mensah, and B. Y. Fosu-Mensah, “Pesticides exposure and the use of personal protective equipment by cocoa farmers in Ghana,” *Environ. Syst. Res.*, vol. 5, no. 1, 2016, doi: 10.1186/s40068-016-0068-z.
- [18] M. F. Ahmad *et al.*, “Pesticides impacts on human health and the environment with their mechanisms of action and possible countermeasures,” *Heliyon*, vol. 10, no. 7, p. e29128, 2024, doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e29128.
- [19] B. T. Nga and L. Q. Viet, “Present status of watercress (*Nasturtium officinale*) production, and residuals of pesticides in soil, water, watercress in Thuan An village, Binh Minh district, Vinh Long province,” *J. Sci. Can Tho Univ.*, pp. 278–287, 2010.
- [20] P. M. Hoai, Z. Sebesvari, T. B. Minh, P. H. Viet, and F. G. Renaud, “Pesticide pollution in agricultural areas of Northern Vietnam: Case study in Hoang Liet and Minh Dai communes,” *Environ. Pollut.*, vol. 159, no. 12, pp. 3344–3350, 2011, doi: 10.1016/j.envpol.2011.08.044.
- [21] M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Štajnbaher, and F. J. Schenck, “Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and ‘dispersive solid-phase extraction’ for the determination of pesticide residues in produce,” *J. AOAC Int.*, vol. 86, no. 2, pp. 412–431, 2003, doi: 10.1093/jaoac/86.2.412.
- [22] G. R. Algharibeh and M. S. AlFararjeh, “Pesticide residues in fruits and vegetables in Jordan using liquid chromatography/tandem mass spectrometry,” *Food Addit. Contam. Part B Surveill.*, vol. 12, no. 1, pp. 65–73, 2019, doi: 10.1080/19393210.2018.1548505.
- [23] J. X. Li *et al.*, “Screening of 439 pesticide residues in fruits and vegetables by gas chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry based on TOF accurate mass database and Q-TOF spectrum library,” *J. AOAC Int.*, vol. 101, no. 5, pp. 1631–1638, 2018, doi: 10.5740/jaoacint.17-0105.
- [24] A. Stachniuk, “LC-MS/MS Determination of Pesticide Residues in Fruits and Vegetables,” pp. 1–26, 2018, doi: 10.1007/978-3-319-54528-8_82-1.
- [25] Đ. H. Nguyễn, Thị Hà My, Dương, Đức Anh, Lê, Thị Hương, Đình, “Bước đầu nghiên cứu ứng dụng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ tứ cực thời gian bay (LC-QTOF-MS) để giám sát tồn dư hóa chất bảo vệ thực vật trong rau củ quả,” *Tạp chí Kiểm nghiệm và An toàn thực phẩm*, vol. 6, no. 3, pp. 325–342, 2023.
- [26] European Commission, “SANTE/12682/2019 - Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed,” 2017, [Online]. Available: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf.
- [27] AOAC, “Standard Method Performance Requirements Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements,” *AOAC Official Methods of Analysis*. 2016.
- [28] D. Steiner, R. Krska, A. Malachová, I. Taschl, and M. Sulyok, “Evaluation of Matrix Effects and Extraction Efficiencies of LC-MS/MS Methods as the Essential Part for Proper Validation of Multiclass Contaminants in Complex Feed,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 68, no. 12, pp. 3868–

- 3880, 2020, doi: 10.1021/acs.jafc.9b07706.
- [29] A. Shuja, H. Shafi, A. I. Abid, M. M. Iqbal, and M. S. Khatak, "Determination of Pesticide Residues Using QuEChERS Extraction with Inert GC-MSD Analytical Technique and Application on Seasonal Fruits and Vegetables in Pakistan," *OALib*, vol. 09, no. 03, pp. 1–13, 2022, doi: 10.4236/oalib.1108499.
- [30] S. Saito-Shida, S. Nemoto, R. Teshima, and H. Akiyama, "Quantitative analysis of pesticide residues in vegetables and fruits by liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry," *Food Addit. Contam. - Part A Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess.*, vol. 33, no. 1, pp. 119–127, 2015, doi: 10.1080/19440049.2015.1109714.
- [31] K. Pszczolińska, N. Shakeel, and H. Barchanska, "A simple approach for pesticide residues determination in green vegetables based on QuEChERS and gas chromatography tandem mass spectrometry," *J. Food Compos. Anal.*, vol. 114, no. July, 2022, doi: 10.1016/j.jfca.2022.104783.
- [32] N. D. G. Chau, N. Van Hop, H. T. Long, N. T. M. Duyen, and G. Raber, "Multi-residue analytical method for trace detection of new-generation pesticides in vegetables using gas chromatography–tandem mass spectrometry," *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes*, vol. 55, no. 5, pp. 417–428, 2020, doi: 10.1080/03601234.2019.1707585.
- [33] A. Chai, L. Kuet, and L. Seng%, "Determination of Organochlorine Pesticides in Vegetables by Solid-Phase Extraction Cleanup and Gas Chromatography," *Pertanika J. Sci. Technol.*, vol. 11, no. 2, pp. 249–259, 2003.
- [34] B. Łozowicka, M. Jankowska, and P. Kaczyński, "Pesticide residues in Brassica vegetables and exposure assessment of consumers," *Food Control*, vol. 25, no. 2, pp. 561–575, 2012, doi: 10.1016/j.foodcont.2011.11.017.

ABSTRACT

METHOD EVALUATION FOR RESIDUE DETERMINATION OF CERTAIN PESTICIDES IN SOIL AND VEGETABLES, TUBERS, FRUITS USING THE QUECHERS TECHNIQUE IN COMBINATION WITH GC-MS/MS

Nguyen Dang Giang Chau¹, Nguyen Truong Nhat Ni², Nguyen Thi Hong^{1,2*}

¹Department of Chemistry, University of Sciences, Hue University

²Khue Nam Technology Science Services, Ho Chi Minh City

*Email: nthong.dhkh25@hueuni.edu.vn

This research shows a tried-and-true way to simultaneously measure six different pesticides (cypermethrin, BHC (alpha), fenpropathrin, heptachlor, ethion, and 4,4'-DDT) in soil, fruits, vegetables, and tubers at the same time. The method adheres to the AOAC and SANTE/2019/12682 guidelines for validation. We employed the QuEChERS extraction technique, followed by gas chromatography–tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The method showed a large linear range (10–100 µg/L) for three different matrices: n-hexane solvent, mustard greens, and tomato. There were very few matrix effects (<20%) in any of the matrices. The limit of quantification (LOQ) was low, ranging from 0.011 to 0.032 mg/kg. The method met the AOAC criteria for accuracy and precision, with recovery rates between 80% and 110% and relative standard deviations (RSDr) below 15%. Therefore, this validated method provides a reliable and sensitive tool for the simultaneous analysis of these pesticides in agricultural and environmental samples.

Keywords: QuEChERS, GC-MS/MS, pesticides, residue analysis, soil samples, fruit and vegetable samples.