

## MỞ ĐẦU

- Thuốc BVTV được sử dụng rộng rãi trong nông nghiệp để phòng trừ sâu bệnh, dịch hại cây trồng và được coi là một trong những biện pháp kỹ thuật được áp dụng nhằm tăng năng suất, đảm bảo cung cấp lương thực, thực phẩm nuôi sống con người.

- Hóa chất bảo vệ thực vật có nhiều nhóm hóa chất khác nhau, trong đó có bốn nhóm chính là: photpho hữu cơ, clo hữu cơ, carbamat và pyrethroid. Nhóm clo hữu cơ đã bị cấm sử dụng, nhóm pyrethroid vẫn đang được sử dụng nhưng độc tính thấp, ít có khả năng gây nhiễm độc cho người sử dụng. Còn lại 2 nhóm: lân hữu cơ và carbamat đang được dùng rộng rãi trong nông nghiệp, có độc tính cao và là nguyên nhân chính của phần lớn các vụ ngộ độc do ăn rau quả nhiễm hóa chất bảo vệ thực vật ở nước ta hiện nay.

Với những lý do trên, chúng tôi đã lựa chọn đề tài: *“Xác định hợp chất thuốc trừ sâu cơ photpho (OP) trong rau quả bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC/MS)”*.

### **Mục tiêu thực hiện đề tài luận văn là:**

1. Xây dựng phương pháp xác định dư lượng thuốc trừ sâu cơ photpho trong rau quả, bao gồm:

- Khảo sát các điều kiện tách chiết mẫu và phân tích
- Thẩm định phương pháp đã xây dựng

2. Áp dụng phương pháp để khảo sát, xác định dư lượng thuốc trừ sâu cơ photpho trên một số mẫu rau, quả trên địa bàn Hà Nội.

## CHƯƠNG 1 - TỔNG QUAN

### **1. Hoá chất bảo vệ thực vật và tình hình sử dụng hóa chất BVTV**

#### **1.1. Định nghĩa**

Hóa chất bảo vệ thực vật là những chất hoặc hợp chất độc có nguồn gốc tự nhiên hoặc tổng hợp hóa học dùng để phòng, trừ (diệt) các sinh vật gây hại tài nguyên thực vật, các chế phẩm có tác dụng điều hòa sinh trưởng thực vật, các chế phẩm có tác dụng xua đuổi các loại sinh vật gây hại cây trồng và nông sản

#### **1.2. Phân loại**

- Phân loại theo đối tượng phòng trừ: thuốc trừ sâu, thuốc trừ bệnh, thuốc trừ chuột, thuốc trừ nhện, thuốc trừ cỏ.
- Phân loại theo con đường xâm nhập: thuốc có dạng tiếp xúc, thuốc có tác dụng vị độc, thuốc có tác dụng xông hơi, thuốc nội hấp, thuốc có tác dụng thấm sâu.
- Phân loại theo gốc hóa học: nhóm thuốc thảo mộc, nhóm clo hữu cơ, nhóm photpho hữu cơ, nhóm cacbamat, nhóm pyrethroid, nhóm vi sinh ...

### 1.3. Tình hình sử dụng hóa chất BVTV

- **Giai đoạn 1 (trước năm 1940):** chủ yếu sử dụng các hợp chất vô cơ, như dùng thạch tím làm thuốc trừ sâu và diệt chuột; dùng đồng, lưu huỳnh, thủy ngân để trừ nấm bệnh. Các chất này có độ độc cao và tồn lưu tương đối lâu trong môi trường.
- **Giai đoạn 2 (1946 đến 1960):** đã phát minh ra hàng loạt các hợp chất hữu cơ như OP, OC và carbamat, có thể được coi là thời kỳ cách mạng trong sản xuất và sử dụng hóa chất BVTV.
- **Giai đoạn 3 (1960 đến 1980):** Phát minh ra các nhóm PY, các thuốc trừ bệnh, trừ cỏ hữu cơ, thuốc trừ sâu, thuốc trừ bệnh có nguồn gốc sinh học và các chất điều hòa sinh trưởng thực vật. Trong giai đoạn này, hóa chất BVTV cơ Clo thế hệ 1 bắt đầu bị cấm sử dụng ở một số nước phát triển, DDT bị cấm sử dụng trong nông nghiệp tại Mỹ.
- **Giai đoạn 4 (1980 đến nay):** phát minh ra nhiều loại hóa chất BVTV có nguồn gốc sinh học và nguồn gốc mới. Hầu như toàn bộ hóa chất BVTV nhóm clo hữu cơ độc hại bị cấm sử dụng ở các quốc gia trên thế giới và ở Việt Nam. Nhiều OP có độ độc cao cũng bị cấm sử dụng.

### 1.4. Ảnh hưởng của hóa chất BVTV đến môi trường và sức khỏe con người

- Việc sử dụng hóa chất BVTV, đặc biệt là thuốc trừ sâu là một trong những nguyên nhân gây ô nhiễm môi trường đất, nước và không khí. Khi phun thuốc trừ sâu, bệnh, cỏ dại, thuốc sẽ tạo thành một lớp mỏng trên bề mặt vật được phun (lá cây, trái cây, thân cây, mặt đất, mặt nước) và một lớp chất lắng của thuốc có những biến đổi gọi là dư lượng của thuốc. Một phần khác là dung môi, chất mang tải và các phụ gia khác.

- Dư lượng của các loại hóa chất BVTV có thể tồn tại trên mặt đất hoặc di chuyển xuống các lớp đất sâu, được rửa trôi xuống ruộng, ao, hồ, sông hoặc xâm nhập xuống mạch nước ngầm làm ô nhiễm nguồn nước.

### **1.5. Tác hại của hóa chất BVTV cơ Photpho**

- Hóa chất BVTV nhóm Photpho được dùng rộng rãi và phổ biến nhất trong các loại hóa chất BVTV. Các loại thuốc trừ sâu thường sử dụng là Wofatox (Metyl parathion), thiophot (parathion), diazinon (basudin), metamidophot (tamaron, monitor), clorophot (diphtherex), malathion (cacbophot)...

Tất cả các hóa chất BVTV nhóm Photpho hữu cơ đều có công thức dạng:

Ở đây R là gốc alkyl, X là gốc hữu cơ

Về hoạt tính sinh học, các hợp chất cơ photpho đều rất độc đối với người và động vật máu nóng.

- Các hợp chất cơ photpho đều có áp suất hơi cao, dễ bay hơi là những chất độc đường hô hấp. Chúng dễ hòa tan trong các dung môi hữu cơ và dầu mỡ, dễ phân hủy nên khó thu hồi được chính phẩm ban đầu.

### **1.6. Các phương pháp phân tích dư lượng hóa chất BVTV**

- Phương pháp sắc ký khí
- Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao
- Phương pháp điện di
- Phương pháp cực phổ
- Phương pháp sắc ký bản mỏng

## CHƯƠNG 2: THỰC NGHIỆM

### 2.2. Xây dựng phương pháp

Khảo sát phương pháp bao gồm:

- Điều kiện chạy sắc ký GC/MS
- Điều kiện tách chiết mẫu
- Thẩm định phương pháp:
- Giới hạn phát hiện LOD, giới hạn định lượng LOQ
- Khoảng tuyến tính
- Độ chụm (độ lặp lại)
- Độ đúng (độ chệch, độ thu hồi)

### 2.1. Đối tượng và mục tiêu nghiên cứu

- Mục tiêu của đề tài là nghiên cứu xây dựng phương pháp xác định đồng thời dư lượng các thuốc trừ sâu cơ phot pho trong rau, quả bằng phương pháp sắc ký khí ghép nối khối phổ (GC/MS).

- Trong luận văn này, chúng tôi sẽ tiến hành xác định các loại thuốc trừ sâu cơ Phot pho là Methyl parathion (Vofatox) và Parathion (Thiophot) là chính, bởi vì hai loại thuốc này vẫn được sử dụng khá phổ biến và có ảnh hưởng rất lớn đến môi trường cũng như sức khỏe con người.

## CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Tối ưu các điều kiện thiết bị GC/MS

#### 3.1.1. Chọn điều kiện bơm mẫu

- Thể tích bơm mẫu là 2  $\mu$ l
- Chế độ tiêm không chia dòng (splitless).
- Nhiệt độ cổng tiêm: 250 $^{\circ}$ C
- Dung môi sử dụng để pha các mẫu chạy sắc ký: n-hexan

#### 3.1.2. Chọn chương trình nhiệt độ cho buồng cột

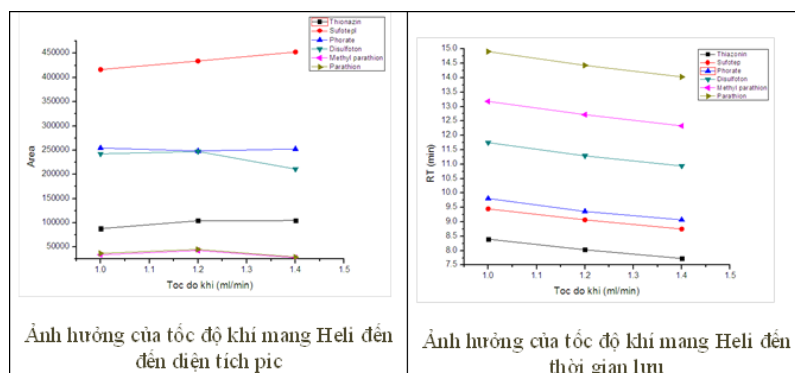
| TT | Nhiệt độ cột GC ( $^{\circ}$ C) | Tốc độ tăng nhiệt độ ( $^{\circ}$ C/phút) | Thời gian duy trì (phút) |
|----|---------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|
| 1  | 70                              | 0                                         | 2                        |
| 2  | 150                             | 25                                        | 0                        |
| 3  | 250                             | 5                                         | 5                        |

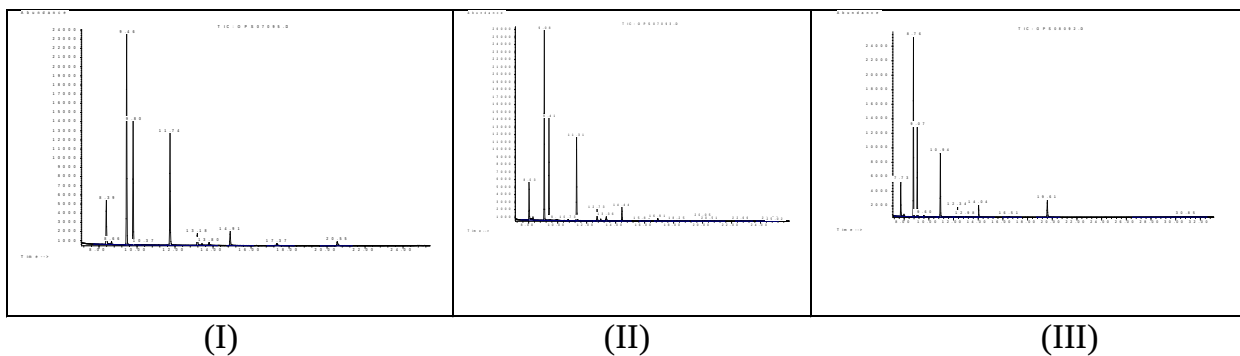
#### 3.1.3. Lựa chọn các thông số cho detector khối phổ MSD 5973N

Theo các thông số cài đặt của nhà sản xuất Agilent và các tài liệu tham khảo, chúng tôi chọn các thông số như sau:

- Nhiệt độ nguồn ion 230 $^{\circ}$ C
- Năng lượng ion hóa Ei 70 eV
- Detector gain 1,2 kV
- Thời gian ngắt dung môi 7 phút
- Chế độ TIC: quét các ion trong khoảng m/z: 50 đến 550 amu; Chế độ SIM hoặc SCAN.
- Nhiệt độ kết nối (interface): 250 $^{\circ}$ C

#### 3.1.4. Khảo sát tốc độ khí mang Heli

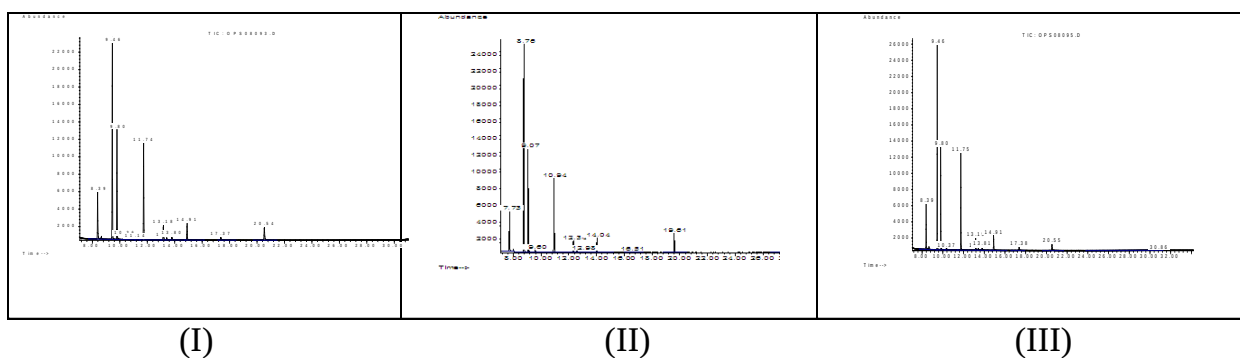
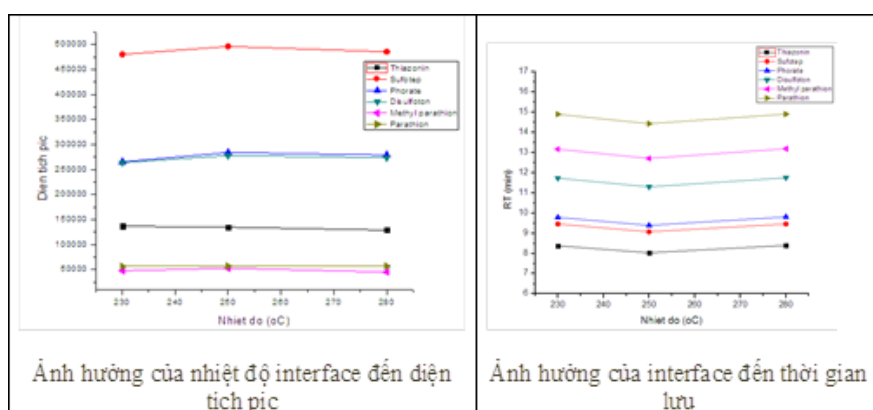




Nhận xét:

Khi tốc độ khí mang Heli tăng từ 1,0ml/phút đến 1,4ml/phút thì thời gian lưu giảm dần. Diện tích pic khi tăng tốc độ khí mang thay đổi không đáng kể và tại 1,2ml/phút thì cho diện tích pic các chất là ổn định nhất. Đảm bảo các chất được tách hoàn toàn khỏi nhau và tính kinh tế chúng tôi chọn tốc độ của dòng khí mang là 1,2ml/phút cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.1.5. Khảo sát nhiệt độ bộ phận kết nối



### Nhận xét:

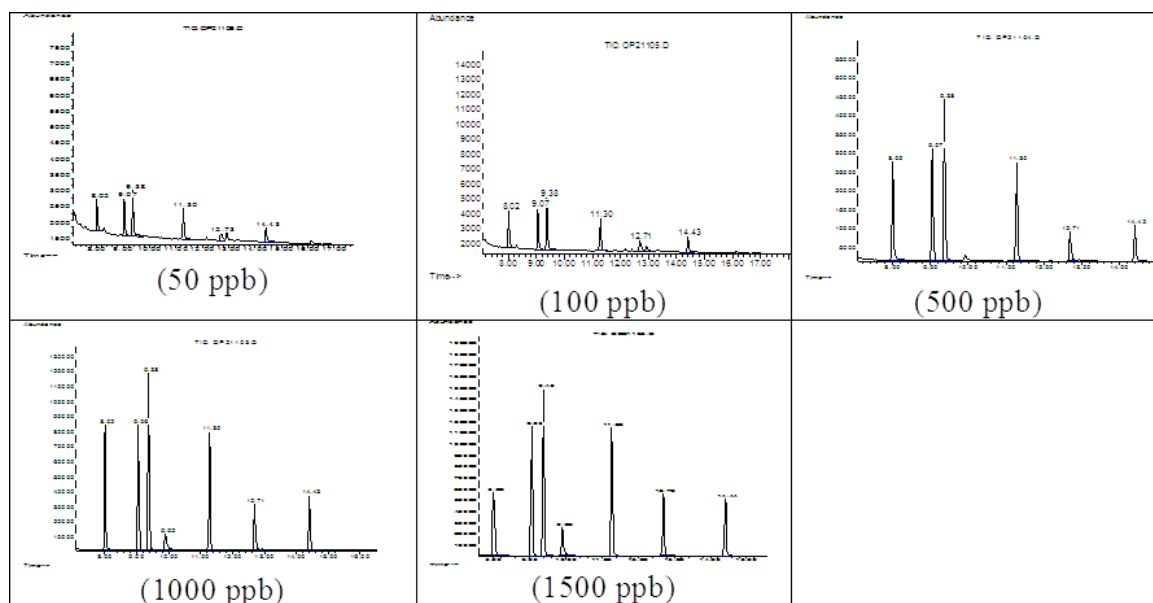
- Khi nhiệt độ interface ở 250oC thì thời gian lưu nhỏ nhất mà các chất vẫn tách ra khỏi nhau.
- Diện tích pic của các chất cũng lớn nhất tại nhiệt độ bộ phận kết nối 250oC.
- Điều kiện tối ưu cho thiết bị GC-MS

## 3.2. Tối ưu các điều kiện tách chiết và làm sạch

### 3.2.1. Khảo sát lập đường chuẩn

|                            | Chất phân tích |          |         |            |                  |           |
|----------------------------|----------------|----------|---------|------------|------------------|-----------|
|                            | Thionazin      | Sulfotep | Phorate | Disulfoton | Methyl parathion | Parathion |
| Thời gian lưu $t_R$ (phút) | 8,02           | 9,08     | 9,39    | 11,30      | 12,71            | 14,42     |

| Nồng độ (ppb) | Diện tích pic |          |         |            |                  |           |
|---------------|---------------|----------|---------|------------|------------------|-----------|
|               | Thionazin     | Sulfotep | Phorate | Disulfoton | Methyl parathion | Parathion |
| Hexan         | -             | -        | -       | -          | -                | -         |
| Hexan         | -             | -        | -       | -          | -                | -         |
| 50            | 30742         | 36528    | 49817   | 40388      | 16061            | 24718     |
| 100           | 75072         | 85615    | 120343  | 75032      | 31823            | 38508     |
| 500           | 1004599       | 1335321  | 1315214 | 1309321    | 388318           | 468227    |
| 1000          | 2255328       | 2494752  | 3431041 | 2319532    | 1122661          | 1184222   |
| 1500          | 2559897       | 3772184  | 4217993 | 3807639    | 1686560          | 1876020   |



### 3.2.2. Xác định LOD và LOQ

- Tính theo phương trình hồi quy đường chuẩn
- Theo lý thuyết thống kê thì:  $LOD = 3S_y/b$  và  $LOQ = 10 \times S_y/b$

| Chất phân tích   | Phương trình hồi quy<br>$y = a + bx$ | Hệ số góc<br>(b) | Độ lệch chuẩn<br>( $S_y$ ) | LOD<br>(ng/ml) | LOQ<br>(ng/ml) |
|------------------|--------------------------------------|------------------|----------------------------|----------------|----------------|
| Thionazin        | $y = 2368,73x - 135661$              | 2368,73          | 8072,04                    | 10,22          | 34,08          |
| Sulfotep         | $y = 2635,89x - 124252$              | 2635,89          | 8592,09                    | 9,78           | 32,60          |
| Phorate          | $y = 3596,39 - 204410$               | 3596,39          | 12109,48                   | 10,10          | 33,67          |
| Disulfoton       | $y = 2443,31x - 121789$              | 2443,31          | 8449,19                    | 10,37          | 34,58          |
| Methyl parathion | $y = 1075,87x - 9082$                | 1075,87          | 7570,89                    | 21,11          | 70,37          |
| Parathion        | $y = 1133,54x - 56168$               | 1133,54          | 7522,04                    | 19,91          | 66,36          |

### 3.2.4. Độ lặp lại của thiết bị

Để đánh giá độ lặp lại của thiết bị, chúng tôi tiến hành khảo sát độ lặp lại ở 3 nồng độ trong khoảng tuyến tính là: 50 ppb, 500 ppb và 1000 ppb. Kết quả chỉ ra ở bảng sau:

Độ lặp lại của thiết bị tại nồng độ các OP 50 ppb

|                           | Thionazin    | Sulfotep     | Phorate      | Disulfoton   | Methyl parathion | Parathion    |
|---------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------------|--------------|
| 1                         | 30644        | 36812        | 49087        | 40238        | 15889            | 24709        |
| 2                         | 31003        | 37107        | 52032        | 43253        | 17200            | 25652        |
| 3                         | 28063        | 36998        | 46981        | 38678        | 16578            | 24011        |
| 4                         | 32342        | 35773        | 47889        | 42769        | 15446            | 26232        |
| 5                         | 30935        | 32515        | 51278        | 39804        | 17442            | 23899        |
| <b>Giá trị trung bình</b> | <b>30617</b> | <b>35784</b> | <b>49599</b> | <b>40978</b> | <b>16545</b>     | <b>24902</b> |
| <b>Độ lệch chuẩn</b>      | <b>699</b>   | <b>850</b>   | <b>963</b>   | <b>877</b>   | <b>366</b>       | <b>456</b>   |
| <b>% RSD</b>              | <b>5,10</b>  | <b>5,31</b>  | <b>4,34</b>  | <b>4,79</b>  | <b>4,94</b>      | <b>4,10</b>  |

### Độ lặp lại của thiết bị tại nồng độ các OP 500 ppb

|                           | Thionazin      | Sulfotep       | Phorate        | Disulfoton     | Methyl parathion | Parathion     |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|---------------|
| 1                         | 1004769        | 1335481        | 1334367        | 1308970        | 389131           | 469001        |
| 2                         | 1009234        | 1340325        | 1355718        | 1311327        | 389806           | 470188        |
| 3                         | 1014186        | 1327821        | 1353523        | 1299732        | 390348           | 469973        |
| 4                         | 1111623        | 1338112        | 1345988        | 1379321        | 398967           | 459988        |
| 5                         | 1080037        | 1395653        | 1420023        | 1415718        | 377883           | 468227        |
| 6                         | 1033464        | 1414653        | 1391254        | 1335321        | 410283           | 490122        |
| <b>Giá trị trung bình</b> | <b>1042194</b> | <b>1358648</b> | <b>1366953</b> | <b>1341790</b> | <b>392601</b>    | <b>471121</b> |
| <b>Độ lệch chuẩn</b>      | <b>17899</b>   | <b>15009</b>   | <b>13115</b>   | <b>18856</b>   | <b>4476</b>      | <b>4098</b>   |
| <b>% RSD</b>              | <b>4,21</b>    | <b>2,71</b>    | <b>2,35</b>    | <b>3,44</b>    | <b>2,79</b>      | <b>2,13</b>   |

### Độ lặp lại của thiết bị tại nồng độ các OP 1000 ppb

|                           | Thionazin      | Sulfotep       | Phorate        | Disulfoton     | Methyl parathion | Parathion      |
|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|
| 1                         | 2254328        | 2489752        | 3433223        | 2319678        | 1124598          | 1185252        |
| 2                         | 2284528        | 2543910        | 3502874        | 2427653        | 1196293          | 1202892        |
| 3                         | 2085624        | 2398823        | 3398002        | 2289747        | 1095483          | 1209823        |
| 4                         | 2301279        | 2601342        | 3289456        | 2480961        | 1218853          | 1127643        |
| 5                         | 2260457        | 2424387        | 3532448        | 2308702        | 1209826          | 1159021        |
| <b>Giá trị trung bình</b> | <b>2237443</b> | <b>2492643</b> | <b>3430764</b> | <b>2365319</b> | <b>1168623</b>   | <b>1176720</b> |
| <b>Độ lệch chuẩn</b>      | <b>86877</b>   | <b>83530</b>   | <b>95631</b>   | <b>84071</b>   | <b>55786</b>     | <b>33760</b>   |
| <b>% RSD</b>              | <b>3,88</b>    | <b>3,35</b>    | <b>2,79</b>    | <b>3,55</b>    | <b>4,77</b>      | <b>2,87</b>    |

Thực nghiệm cũng cho thấy khi bơm lặp lại 5 lần tại nồng độ 50 ppb, 500 ppb và 1000 ppb theo các điều kiện tối ưu tìm được thì thiết bị có độ ổn định cao với  $RSD < 6 \%$ .

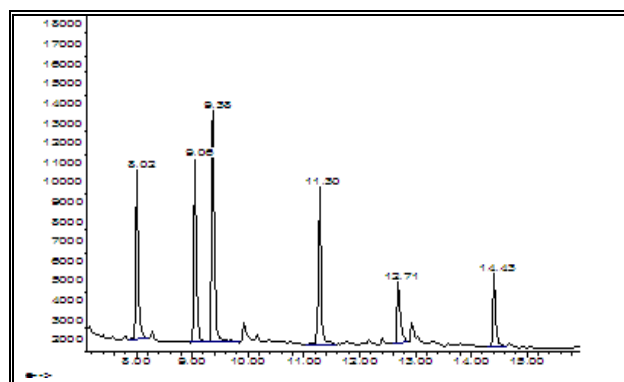
### 3.3. Khảo sát điều kiện chiết tách

#### 3.3.1. Khảo sát chọn dung môi chiết

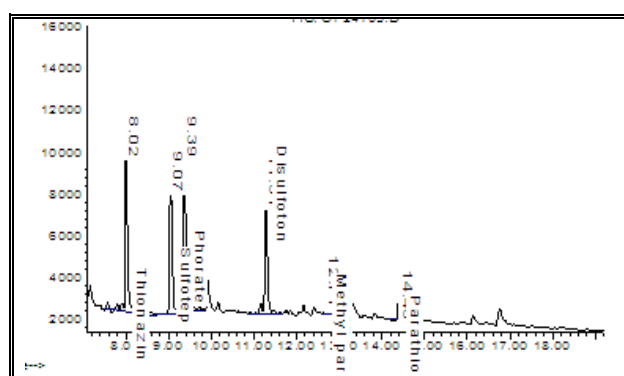
Để tách chiết các chất phân tích nhóm photpho hữu cơ ra khỏi nền mẫu, sau khi tham khảo tài liệu chúng tôi chọn hai loại dung môi là aceton và acetonitril để khảo sát theo các điều kiện để lấy chất phân tích.

- + Các hoạt chất phân tích khảo sát gồm: Thionazin, Sulfotep, Phorate, Methyl parathion, Parathion
- + Điều kiện tối ưu cho thiết bị GC/MS theo mục 3.1
- + Cột chiết pha rắn là C18

Kết quả thu được như sau:



Sắc ký đồ các chất phân tích 200ppb chiết bằng dung môi Acetone



Sắc ký đồ các chất phân tích 200ppb chiết bằng dung môi Acetonitril

Hiệu suất thu hồi của các chất phân tích 200ppb khi chiết bằng acetone và ACN  
( $n = 3$ )

| Dung môi | Thionazin    | Sulfotep     | Phorate      | Disulfoton   | Methyl parathion | Parathion    |                  |
|----------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------------|--------------|------------------|
| Aceton   | 303752       | 310287       | 363472       | 277985       | 136427           | 93189        | Diện tích pic    |
|          | 178,23       | 174,18       | 169,87       | 170,03       | 166,67           | 172,38       | Nồng độ thu được |
|          | <b>89,11</b> | <b>87,09</b> | <b>84,93</b> | <b>85,01</b> | <b>83,33</b>     | <b>86,19</b> | <b>R(%)</b>      |
|          | <b>3,72</b>  | <b>5,01</b>  | <b>3,66</b>  | <b>6,01</b>  | <b>3,53</b>      | <b>7,28</b>  | <b>% RSD</b>     |
| ACN      | 301012       | 316723       | 376102       | 312505       | 195868           | 141921       | Diện tích pic    |
|          | 168,88       | 164,75       | 174,01       | 180,21       | 176,05           | 160,86       | Nồng độ thu được |
|          | <b>84,44</b> | <b>82,37</b> | <b>87,01</b> | <b>90,10</b> | <b>88,02</b>     | <b>80,43</b> | <b>R(%)</b>      |
|          | <b>6,57</b>  | <b>4,61</b>  | <b>3,72</b>  | <b>4,19</b>  | <b>4,83</b>      | <b>6,27</b>  | <b>% RSD</b>     |

*Nhận xét:*

Cả hai loại dung môi chiết là acetone và acetonitril đều cho hiệu suất chiết gần như tương đương nhau, nhưng dung môi ACN rất độc đối với sức khỏe con người và có giá

thành rất cao. Do đó, chúng tôi chọn dung môi Aceton làm dung môi chiết cho nghiên cứu này.

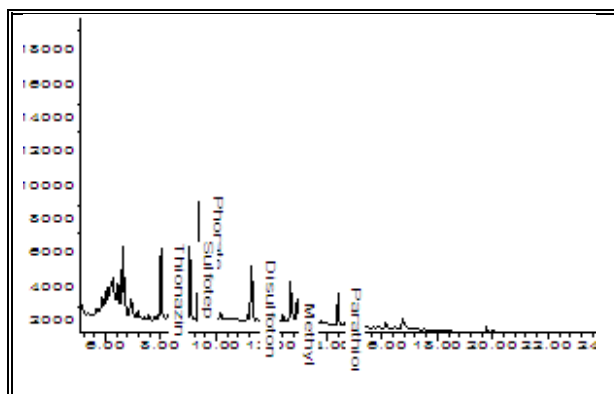
### 3.3.2. Khảo sát dung môi rửa giải

Các hoạt chất dùng để khảo sát gồm: Thionazin, Sulfotep, Phorate, Methyl parathion, Parathion được chiết ra khỏi nền mẫu với dung môi aceton; điều kiện tối ưu cho thiết bị đo GC/MS theo mục 3.1. Đối tượng nghiên cứu là các mẫu rau quả có nền mẫu phức tạp. Do đó, cần phải có quá trình làm sạch mẫu trước khi bơm vào máy. Theo các tài liệu tham khảo và qua thực nghiệm, chúng tôi sử dụng phương pháp chiết pha rắn với cột C18 để làm sạch mẫu và được rửa giải bằng hỗn hợp các hỗn hợp dung môi khác nhau:

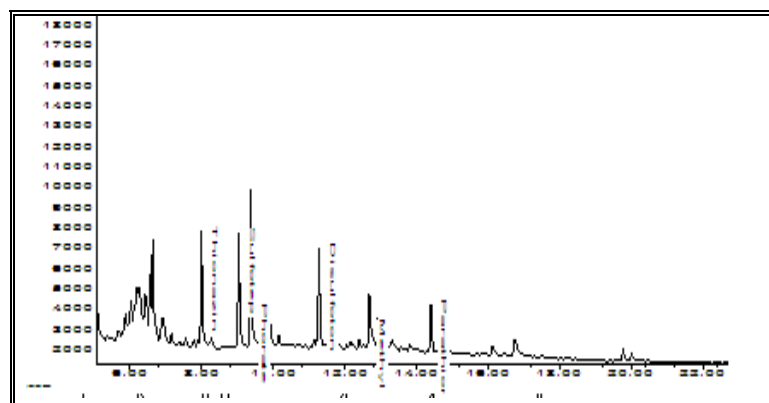
Loại I: hexan:petroleum ete (1:1)

Loại II: aceton:petroleum ete (1:1)

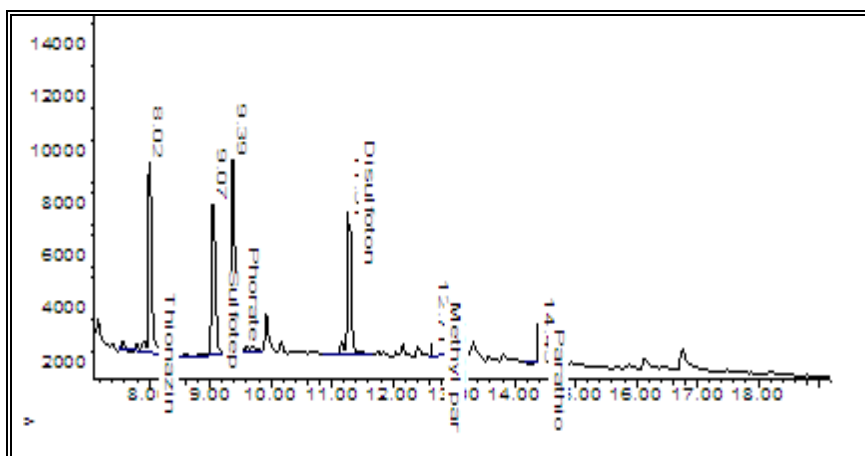
Loại III: hexan:aceton (5:1)



Sắc ký đồ các chất phân tích rửa giải bằng hỗn hợp dung môi loại I



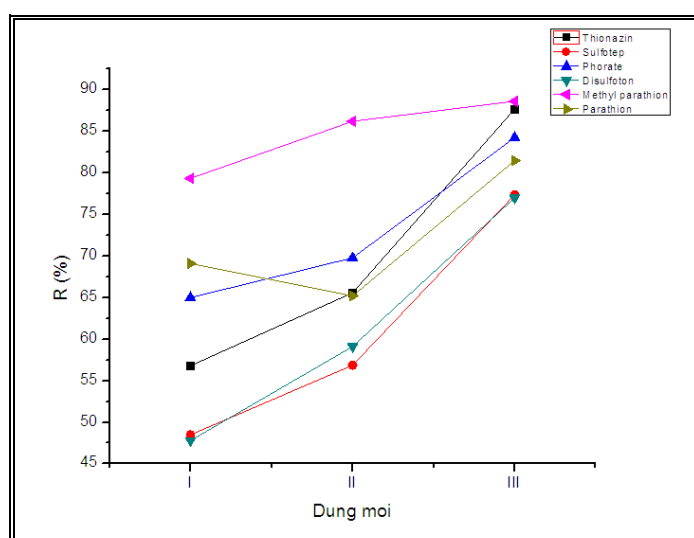
Sắc ký đồ các chất phân tích rửa giải bằng hỗn hợp dung môi loại II



Sắc ký đồ các chất phân tích rửa giải bằng hỗn hợp dung môi loại III

Kết quả khảo sát loại dung môi rửa giải đối với các chất phân tích

| Dung môi                                | Thionazin    | Sulfotep     | Phorate      | Disulfoton   | Methyl parathion | Parathion    |                  |
|-----------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|------------------|--------------|------------------|
| Aceton :Petroleum ether (1:1)<br>Loại I | 134037       | 140850       | 229209       | 140873       | 89272            | 62769        | Diện tích pic    |
|                                         | 113,57       | 96,97        | 129,99       | 95,59        | 158,69           | 138,22       | Nồng độ thu được |
|                                         | <b>56,79</b> | <b>48,49</b> | <b>65,00</b> | <b>47,80</b> | <b>79,35</b>     | <b>69,11</b> | <b>R(%)</b>      |
|                                         | <b>2,32</b>  | <b>3,01</b>  | <b>3,67</b>  | <b>4,12</b>  | <b>3,88</b>      | <b>5,06</b>  | <b>% RSD</b>     |
| Hexan: Petroleum ether (1:1)<br>Loại II | 177805       | 196093       | 263312       | 202145       | 106930           | 77376        | Diện tích pic    |
|                                         | 131,15       | 113,72       | 139,55       | 118,23       | 172,41           | 130,39       | Nồng độ thu được |
|                                         | <b>65,58</b> | <b>56,86</b> | <b>69,78</b> | <b>59,12</b> | <b>86,21</b>     | <b>65,20</b> | <b>R(%)</b>      |
|                                         | <b>3,28</b>  | <b>2,77</b>  | <b>5,04</b>  | <b>3,32</b>  | <b>4,11</b>      | <b>4,25</b>  | <b>% RSD</b>     |
| Hexan : Aceton (5:1)<br>Loại III        | 304679       | 304744       | 366920       | 278383       | 134070           | 92633        | Diện tích pic    |
|                                         | 175,34       | 164,75       | 168,49       | 154,01       | 177,25           | 162,98       | Nồng độ thu được |
|                                         | <b>87,67</b> | <b>82,37</b> | <b>84,24</b> | <b>79,75</b> | <b>85,62</b>     | <b>81,49</b> | <b>R(%)</b>      |
|                                         | <b>3,42</b>  | <b>4,16</b>  | <b>3,79</b>  | <b>3,06</b>  | <b>4,55</b>      | <b>3,28</b>  | <b>% RSD</b>     |



Đồ thị biểu diễn sự phụ thuộc hiệu suất thu hồi chất phân tích vào các loại dung môi rửa giải

**Nhận xét:** Hiệu suất thu hồi đối với hỗn hợp dung môi n-hexan:acetone (5:1) là tốt nhất nằm trong khoảng từ 80% đến 86% với RSD <5%. Do đó chúng tôi chọn hỗn hợp dung môi n-hexan:acetone (5:1) cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.3.3. Khảo sát thể tích dung môi rửa giải

Hiệu suất rửa giải từng phân đoạn với hỗn hợp chuẩn OP 1000ppb

| V rửa giải<br>Hoạt chất | PD1<br>5 ml<br>(%) | PD2<br>5 ml<br>(%) | PD3<br>5 ml<br>(%) | Tổng<br>(%) |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|
| Thionazin               | 77,2               | 15,5               | 0                  | <b>92,7</b> |
| Sulfotep                | 74,3               | 17,1               | 0                  | <b>91,4</b> |
| Phorate                 | 82,8               | 11,9               | 0                  | <b>94,7</b> |
| Disulfoton              | 82,6               | 8,1                | 0                  | <b>90,7</b> |
| Methyl parathion        | 85,7               | 5,6                | 0                  | <b>91,3</b> |
| Parathion               | 79,9               | 13,7               | 0                  | <b>93,6</b> |

**Nhận xét:** Từ bảng trên ta thấy hiệu suất thu hồi của các chất phân tích tương đối cao sau khi rửa giải ở phân đoạn 1 và rửa gần như toàn bộ ở phân đoạn 2. Do đó, để vừa đạt được hiệu suất thu hồi cao vừa đỡ tốn dung môi, chúng tôi chọn thể tích rửa giải là 10ml cho các nghiên cứu tiếp theo (Thể tích dung môi rửa giải này có thể thay đổi tùy thuộc vào đối tượng mẫu nghiên cứu).

### 3.4. Đánh giá độ chính xác của phương pháp

- Độ chính xác của phương pháp phân tích có ý nghĩa quyết định giá xem phương pháp phân tích có khả năng ứng dụng hay không. Theo ISO 5725:1994 độ chính xác của phương pháp (accuracy) được đánh giá qua độ đúng (truness) và độ chụm (precision).
- Trong đó độ đúng được đánh giá qua độ chệch - Bias (tương đương với hiệu suất thu hồi - Recovery) bao gồm độ chệch trong nội bộ phòng thí nghiệm (Laboratory bias) và thử nghiệm liên phòng .Với độ chụm chúng tôi đánh giá qua độ lệch chuẩn lặp lại.
- Độ chụm là đại lượng dùng để chỉ mức độ gần nhau của các giá trị riêng lẻ  $x_i$  của các phép đo lặp lại. Nói cách khác độ chụm được dùng để chỉ sự sai khác giữa các giá trị  $x_i$  so với giá trị trung bình  $\bar{x}$ , đại lượng đặc trưng cho độ chụm là

độ lệch chuẩn tương đối %RSD (hay còn được gọi là hệ số biến thiên CV) được tính theo các công thức dưới đây:

$$RSD(\%) = \frac{SD}{S_{tb}} \times 100$$

Trong đó: SD là độ lệch chuẩn

$S_{tb}$  là diện tích trung bình của n lần chạy sắc ký

Độ chụm được tính toán dựa trên việc làm thí nghiệm lặp lại nhiều mẫu với các điều kiện hóa chất, thuốc thử và thiết bị như nhau để đánh giá độ chụm của phương pháp phân tích.

Hiệu suất thu hồi và RSD của các chất phân tích với các mẫu thêm chuẩn 0,05 mg/kg

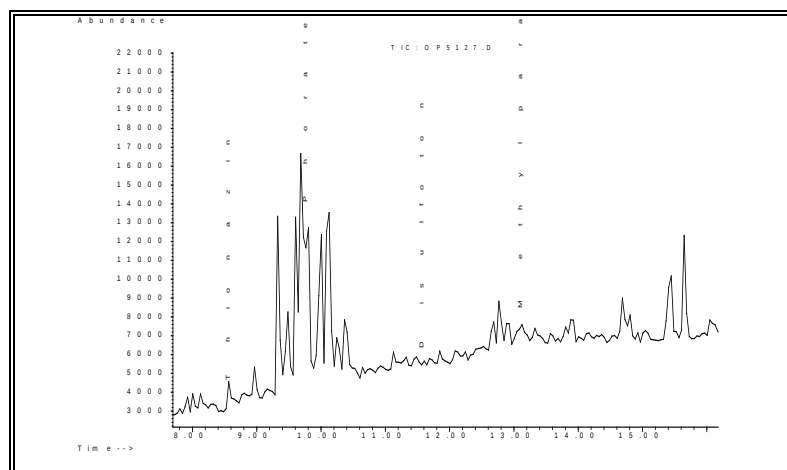
| Hoạt chất        | Cải ngọt |         | Cà chua |         |
|------------------|----------|---------|---------|---------|
|                  | R (%)    | RSD (%) | R (%)   | RSD (%) |
| Thionazin        | 79       | 2,8     | 89      | 3,3     |
| Sulfotep         | 85       | 3,4     | 94      | 1,2     |
| Phorate          | 88       | 2,3     | 79      | 4,1     |
| Disulfoton       | 86       | 4,1     | 85      | 3,6     |
| Methyl parathion | 81       | 1,9     | 91      | 2,4     |
| Parathion        | 90       | 2,6     | 87      | 2,8     |

Từ bảng trên chúng tôi nhận thấy rằng hiệu suất thu hồi của phương pháp nằm trong khoảng 79% đến 94% với %RSD <5%.

### 3.5. Phân tích mẫu thực tế

Sau khi nghiên cứu các điều kiện tách chiết các hợp chất OP, chúng tôi tiến hành phân tích một số mẫu thực. Đối tượng mẫu là một số loại rau quả sau: dưa leo, táo đỏ, nho, cải xanh, bắp cải. Các mẫu rau và quả trước khi đem phân tích cần phải xử lý sơ bộ. Các mẫu được xác định trực tiếp và thêm chuẩn, mỗi mẫu được làm lặp lại 3 lần.

#### a) Kết quả thí nghiệm



Sắc ký đồ của mẫu rau cải xanh không thêm chuẩn

### Kết quả phân tích các mẫu rau, quả

| Loại rau, loại thuốc | Dư lượng (mg/kg) | Dư lượng cho phép của FAO/WHO (mg/kg) | Ghi chú |
|----------------------|------------------|---------------------------------------|---------|
| <b>1. Cải xanh</b>   |                  |                                       |         |
| Thiazinon            | 0,031            | 0,5                                   |         |
| Sulfotep             | -                | 0,5                                   |         |
| Phorate              | 0,044            | 0,5                                   |         |
| Disulfoton           | 0,046            | 0,5                                   |         |
| Methyl parathion     | 0,102            | 0,2                                   |         |
| Parathion            | -                | 0,2                                   |         |
| <b>2. Bắp cải</b>    |                  |                                       |         |
| Thiazinon            | -                | 0,5                                   |         |
| Sulfotep             | -                | 0,5                                   |         |
| Phorate              | -                | 0,5                                   |         |
| Disulfoton           | -                | 0,5                                   |         |
| Methyl parathion     | -                | 0,2                                   |         |
| Parathion            | -                | 0,2                                   |         |
| <b>3. Dưa leo</b>    |                  |                                       |         |
| Thiazinon            | -                | 0,5                                   |         |
| Sulfotep             | -                | 0,5                                   |         |

|                       |   |     |  |
|-----------------------|---|-----|--|
| Phorate               | - | 0,5 |  |
| Disulfoton            | - | 0,5 |  |
| Methyl parathion      | - | 0,2 |  |
| Parathion             | - | 0,2 |  |
| <b>4. Nho đỏ (Mỹ)</b> |   |     |  |
| Thiazinon             | - | 0,5 |  |
| Sulfotep              | - | 0,5 |  |
| Phorate               | - | 0,5 |  |
| Disulfoton            | - | 0,5 |  |
| Methyl parathion      | - | 0,2 |  |
| Parathion             | - | 0,2 |  |
| <b>5. Táo đỏ</b>      |   |     |  |
| Thiazinon             | - | 0,2 |  |
| Sulfotep              | - | 0,2 |  |
| Phorate               | - | 0,5 |  |
| Disulfoton            | - | 0,5 |  |
| Methyl parathion      | - | 0,2 |  |
| Parathion             | - | 0,2 |  |

(-): Không xác định thấy

## CHƯƠNG 4: KẾT LUẬN

Trên cơ sở các kết quả thực nghiệm đã nghiên cứu để xác định dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật nhóm cơ photpho trong một số loại rau quả bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ, chúng tôi đã thu được các kết quả sau:

1. Nghiên cứu và tối ưu hóa được các điều kiện chạy sắc ký khí khối phổ như: tốc độ khí mang, lò, cột sắc ký, detector.
2. Nghiên cứu và đánh giá được khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của các chất cơ photpho. Độ lặp lại và độ thu hồi của phương pháp.
3. Nghiên cứu và đưa ra điều kiện tối ưu để chiết tách và làm sạch các hợp chất cơ photpho trong một số loại rau quả.
4. Đưa ra quy trình phân tích xác định đồng thời dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật nhóm photpho trong một số loại rau quả bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ.
5. Tiến hành phân tích trên 05 mẫu rau quả trên địa bàn Hà Nội và phát hiện mẫu rau cải xanh có chứa dư lượng Methyl parathion (Vofatox) 0,102 mg/kg nhưng vẫn dưới mức hàm lượng tối đa cho phép của WHO/FAO.

Từ các kết quả thu được chúng tôi nhận thấy có thể áp dụng phân tích dư lượng thuốc trừ sâu nhóm cơ photpho trong các loại rau quả với độ tin cậy cao. Đây là một phương pháp có nhiều ưu điểm trong phân tích các chất nhóm photpho hữu cơ khi kết hợp được các phương pháp cổ điển và phương pháp hiện đại.

### ***Kiến nghị:***

Do thời gian gấp rút, phương pháp nghiên cứu còn tồn tại một số vấn đề như chưa đánh giá độ không đảm bảo đo và do điều kiện hạn chế của phòng thí nghiệm nên chưa so sánh kết quả phân tích so với các phương pháp phân tích khác. Vì vậy trong thời gian tới, luận văn sẽ tiếp tục hoàn thiện những vấn đề trên và tiến hành nghiên cứu xây dựng phương pháp xác định dư lượng thuốc BVTV các nhóm khác như clo hữu cơ, cacbamat, pyrethroid....