

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

Nguyễn Thị Hà My, Dương Đức Anh, Lê Thị Hương, Đinh Đăng Huy*

Phòng Phân tích ATTP và Độc chất - Trung tâm Công nghệ cao Vinmec, Hà Nội, Việt Nam

(Ngày đến tòa soạn: 24/08/2023; Ngày chấp nhận đăng: 22/09/2023)

Tóm tắt

Hiện nay, có hàng nghìn hóa chất bảo vệ thực vật (HCBVTV) đang được cho phép sử dụng trong nông nghiệp. Việc lạm dụng hoặc sử dụng HCBVTV không đúng cách sẽ dẫn đến tồn dư trong các sản phẩm tăng lên, vượt quá giá trị giới hạn dư lượng tối đa (MRL) theo qui định. Do đó, việc xây dựng các phương pháp phân tích có thể giám sát, phát hiện và xác định đồng thời nhiều HCBVTV là nhu cầu cần thiết. Phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ tứ cực thời gian bay (LC-QTOF-MS) với ưu điểm có thể định lượng và sàng lọc đồng thời nhiều hợp chất trong cùng một lần phân tích, đang là một trong hướng phát triển để giám sát nhiều HCBVTV trên thế giới. Trong nghiên cứu này, phương pháp LC-QTOF-MS đã được sử dụng để định lượng 186 HCBVTV trong mẫu rau củ quả. Giới hạn phát hiện của phương pháp (LOD) là 3,0 µg/kg. Hiệu suất thu hồi của phương pháp dao động từ 74,4-118%, độ lặp lại RSD <20%. Đồng thời, phương pháp bước đầu được nghiên cứu để sàng lọc tìm kiếm các chất nghi ngờ có trong mẫu lên tới 500 hóa chất, dựa trên kết quả so sánh với thư viện phổ phân giải cao có sẵn kèm theo thiết bị. Giới hạn phát hiện sàng lọc của phương pháp (SDL) là 100 µg/kg. Phương pháp đã được áp dụng để định lượng 186 HCBVTV, đồng thời sàng lọc tìm kiếm HCBVTV nghi ngờ trong 160 mẫu rau củ quả, trong 06 tháng đầu năm 2023.

Từ khóa: Thuốc trừ sâu, Rau củ quả, LC-QTOF-MS.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo quy định của Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn, tính đến tháng 12/2022 Việt Nam hiện có 1757 hóa chất bảo vệ thực vật được phép sử dụng và 31 hóa chất bị cấm sử dụng tại Việt Nam [1]. Bên cạnh đó, người nông dân sử dụng HCBVTV theo thói quen vẫn còn khá phổ biến, dẫn đến việc sử dụng chất cấm, hoặc không tuân thủ hướng dẫn sử dụng (sử dụng không đúng đối tượng cây trồng; dùng vượt quá liều lượng; không đảm bảo đủ thời gian cách ly sau khi sử dụng). Do đó, việc giám sát, theo dõi tồn dư HCBVTV trong nông sản nói chung và rau củ quả nói riêng thông qua kiểm nghiệm mẫu là cần thiết, để thực phẩm đến tay người tiêu dùng được đảm bảo an toàn.

*Điện thoại: 0904341867

Email: v.huydd5@vinmec.com

Trên thế giới các phương pháp xác định HCBVTV đã được phát triển từ rất lâu, và hầu hết các phương pháp hiện nay đang cố gắng hướng đến một phương pháp xác định đồng thời nhiều HCBVTV trong cùng một lần phân tích. Các phương pháp được sử dụng phổ biến để xác định đa dư lượng HCBVTV trong rau củ quả chủ yếu gồm sắc ký khí ghép nối khối phổ, sắc ký lỏng ghép nối khối phổ [2-4]. Trong đó, kỹ thuật sắc ký ghép nối khối phổ ba tứ cực với chế độ giám sát phân mảnh nhiều lần “multiple reaction monitoring” (MRM) đặc biệt chiếm ưu thế nhờ tính chọn lọc và độ nhạy cao [5-8]. Tuy nhiên, khi thiết lập các thông số cài đặt cho các phương pháp này cần có đầy đủ các chất chuẩn để khảo sát, nhằm tìm các thông số tối ưu cho mỗi chất. Vì vậy, các HCBVTV có trong mẫu có nguy cơ bị bỏ sót, do thiếu chất chuẩn hoặc số lượng chất chuẩn không cập nhật kịp theo thực tế sử dụng. Phương pháp LC-QTOF-MS với ưu điểm là tốc độ quét cao, dải phổ khối rộng, độ phân giải cao, giúp ngoài khả năng định lượng tương tự như sắc ký lỏng ghép nối khối phổ ba tứ cực, còn có thể tìm kiếm, phát hiện các hợp chất nghi ngờ có trong mẫu, bằng cách so sánh dữ liệu phổ khối của mẫu (MS, MS/MS all) với thư viện phổ phân giải cao có sẵn. Thư viện sẽ được cập nhật liên tục bởi hãng sản xuất thiết bị. Do đó, phương pháp LC-QTOF-MS sẽ hạn chế một phần nguy cơ bỏ sót các chất, đồng thời cũng rất hiệu quả khi xác định được nhiều hóa chất trong cùng một lần phân tích. Việc kết hợp phương pháp LC-QTOF-MS với kỹ thuật xử lý mẫu QuEChERS đang trở thành xu hướng trong phân tích sàng lọc tìm kiếm các hợp chất chưa biết, đây cũng chính là hướng nghiên cứu được lựa chọn trong bài báo này. Với gần 2000 HCBVTV đang được sử dụng và liên tục được bổ sung, cập nhật hàng năm, thì phương pháp LC-QTOF-MS sẽ trở thành một trong những hướng đi mới để phân tích, sàng lọc đa dư lượng HCBVTV trong tương lai [9-10].

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

186 HCBVTV được lựa chọn để đại diện cho các nhóm hóa chất trong thư viện phổ phân giải cao của hãng Sciex – Mỹ. Việc phân loại các nhóm HCBVTV dựa vào cấu tạo hóa học, vì các hóa chất có cấu tạo tương tự thường có tính chất giống nhau, do đó phương pháp tách chiết và phân tích cũng giống nhau [11-12]. Ngoài ra, việc lựa chọn các HCBVTV đại diện dựa vào thông số $\log K_{ow}$, là chỉ số đặc trưng cho tính chất phân cực của một chất. Thông số này cũng có thể đặc trưng một phần cho quá trình tách chiết mẫu cũng như quá trình phân tích cột sắc ký lỏng. Kết quả đã chọn được 186 HCBVTV đại diện cho 17 nhóm hóa chất, trong đó mỗi nhóm chứa tối thiểu 20% các HCBVTV so với danh sách 500 chất trong thư viện phổ của hãng Sciex. Danh sách chia nhóm cụ thể của 186 hoạt chất được nêu tại Bảng S1. Các HCBVTV này đều được phân tích ở chế độ ion dương theo kỹ thuật ion hóa phun điện tử ESI.

Các nền mẫu được lựa chọn khảo sát đại diện cho 03 nhóm phổ biến rau, củ, quả, bao gồm: cải bắp, cà rốt, kiwi. Mẫu được thái thành từng miếng nhỏ từ 2-5 cm, xay nhuyễn mịn, trộn đều thành dạng đồng nhất. Các mẫu trắng cải bắp, cà rốt, kiwi là các mẫu đã được phân tích trước đó trên thiết bị LC-MS/MS (LC-QTRAP 6500+) và GC-MS/MS (GC-TQ 7010B)

của Phòng kiểm nghiệm (PKN) và không cho tín hiệu trùng với thời gian lưu của các chất phân tích, trong đó bao gồm 186 HCBVTV nêu trên.

2.2. Hóa chất, chất chuẩn

186 chất chuẩn HCBVTV trong Bảng S1 được cung cấp từ LGC Anh, Sigma Aldrich (Mỹ), Toronto Research Chemicals Canada, Fluka (Mỹ) có độ tinh khiết > 95%. Các dung môi tinh khiết dùng cho phân tích sắc ký gồm methanol (MeOH), acetonitril (ACN), acid formic (FA), acid acetic và các hóa chất magesi sulfat khan ($MgSO_4$), natri acetat (CH_3COONa), amoni format được cung cấp bởi hãng Merck (Mỹ); nước khử ion được lấy từ máy lọc nước siêu tinh khiết WaterPro PS (Laconco, Mỹ); bột PSA và C18 được cung cấp bởi Agilent (Mỹ).

Mẫu thử nghiệm thành thạo (TNTT) HCBVTV trong nền mẫu cà chua, mã số H23.02 do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (NIFC) tổ chức năm 2023, gồm 06 chất Difenoconazole, Acetamiprid, Imidacloprid, Indoxacarb, Profenofos, Buprofezin.

Mẫu kiểm soát chất lượng HCBVTV “Quality control materials” (QCM) trong nền bắp cải, mã số FCPM2-VEG32QC được cung cấp từ Fapas (nhà cung cấp dịch vụ thử nghiệm thành thạo được công nhận – Vương quốc Anh), gồm 09 chất: Bendiocarb, Bitertanol, Carbofuran, Diazinon, Dichlorvos, Flusilazole, Imidacloprid, Phenthoate, Phoxim.

2.3. Thiết bị, dụng cụ

Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ phân giải cao gồm sắc ký lỏng siêu hiệu năng ExionLC AD kết nối với khối phổ thời gian bay QTOF X500R của Sciex-Mỹ. Các thiết bị khác bao gồm: máy xay mẫu (Phillips); cân phân tích chính xác đến 0,01 mg (MS205DU, Mettler Toledo); cân kỹ thuật, chính xác đến 0,01 g (ME2002, Mettler Toledo); máy ly tâm (Z206A-Hermle, 5810R-Eppendorf); máy lắc xoáy (Thermo Fisher Scientific); bộ thổi khô bằng khí N_2 (11250, Organomation).

Cột sắc ký pha đảo Kinetex C18 ($2,1 \times 100$ mm; $2,6 \mu m$) và tiền cột tương ứng (Phenomenex). Các dụng cụ cơ bản trong phòng thí nghiệm: micropipet (Eppendorf), bình định mức các loại, ống ly tâm, lọ đựng mẫu 1,8 mL có nắp kín.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Phương pháp xử lý mẫu

Trong nghiên cứu này, quy trình xử lý mẫu QuEChERS được tham khảo theo AOAC 2007.01 [13] để thực hiện chiết và làm sạch mẫu do: quy trình xử lý QuEChERS là quy trình được sử dụng phổ biến nhất trong xử lý mẫu rau củ quả, cho quá trình chiết tách hiệu quả, đặc tính phù rộng các hợp chất bảo vệ thực vật. Mặt khác, quy trình xử lý mẫu nhanh, phù hợp với mục tiêu của nghiên cứu sàng lọc.

Mẫu rau củ quả được thái nhỏ, xay mịn bằng máy xay mẫu. Cân chính xác khoảng 10 g mẫu bằng cân kỹ thuật vào ống ly tâm nhựa 50 mL. Thêm 10 mL dung môi chiết acid acetic 1% trong ACN và lắc xoáy trong 1 phút. Thêm muối chiết gồm 4,0 g $MgSO_4$ khan và 1,0 g CH_3COONa , lắc xoáy trong vòng 1 phút, ly tâm ở tốc độ 6000 vòng/phút trong vòng 5 phút. Chuyển 5 mL dịch chiết vào ống falcon 15 mL đã chứa hỗn hợp chất làm sạch 750 mg $MgSO_4$, 250 mg PSA. Lắc xoáy trong 1 phút, ly tâm ở tốc độ 6000 vòng/phút trong vòng

5 phút. Hút chính xác 500 μL dịch chiết vào lọ 1,8 mL, thêm 1000 μL dung dịch ACN : FA 0,1% (1:9, v/v). Dịch lọc qua màng lọc 0,22 μm được phân tích trên thiết bị LC-QTOF-MS.

2.4.2. Điều kiện LC-QTOF

Điều kiện sắc ký lỏng: Theo thư viện phổ kèm theo thiết bị X500R, trong 500 HCBVTV đa phần tồn tại ở dạng ion $[M+H]^+$, một số ít hợp chất ở dạng $[M+NH_4]^+$ nên trong pha động phải bổ sung cả acid formic và amoni format để tăng khả năng ion hóa các chất phân tích. Thành phần pha động sử dụng gồm kênh (A) nước và kênh (B) MeOH cùng chứa amoni format 5 mM và acid formic 0,1%. Sử dụng cột sắc ký pha đảo Kinetex C18 (100 x 2,1 mm; 2,6 μm), tốc độ dòng 0,3 mL/phút. Cột sắc ký và chương trình gradient pha động được tham khảo từ phương pháp của hãng Sciex [14-15] như trong Bảng 1.

Bảng 1. Chương trình gradient pha động

<i>Thời gian (phút)</i>	<i>A (%)</i>	<i>B (%)</i>
0,0	95	5
1,0	95	5
2,0	55	45
10,0	5	95
12,0	5	95
12,1	95	5
15,0	95	5

Điều kiện trên X500R QTOF: Sử dụng hệ thống khối phổ phân giải cao (X500R QTOF) với kỹ thuật thu nhận tuần tự tất cả khối phổ lý thuyết “Sequential windowed acquisition of all theoretical fragment ions” (SWATH). SWATH đã kết hợp lợi thế của kỹ thuật thu nhận phổ phụ thuộc thông tin “Information dependent acquisition” (IDA) và kỹ thuật giám sát phân mảnh nhiều lần “multiple reaction monitoring” (MRM). Trong kỹ thuật này, cửa sổ thu nhận ion được chia nhỏ, cho phép tất cả các ion mẹ đều được đưa vào buồng va chạm để phân mảnh. Kết quả thu được là thông tin phân mảnh cho tất cả các ion trong toàn bộ dải phổ. Bằng cách tự động điều chỉnh cửa sổ thu nhận dữ liệu và dải phổ theo số lượng ion, hệ thống X500R QTOF đảm bảo việc thu nhận toàn bộ dữ liệu đạt chất lượng tốt nhất, tránh việc bỏ sót dữ liệu mảnh phổ. Ngoài ra, việc sử dụng phần mềm SCIEX OS đã cho phép xử lý và đưa ra các kết quả định lượng và sàng lọc trong cùng một lần phân tích. Điều kiện thông số cài đặt trên X500R QTOF như trong Bảng 2 [15].

Bảng 2. Thông số cài đặt trên hệ thống X500R QTOF

Thông số nguồn ion hóa	
Thế ion hóa (IS voltage): 5500 V	Áp suất khí màng (CUR): 30 psi
Áp suất khí phun 1 (GS1): 55 psi	Áp suất khí hỗ trợ 2 (GS2): 55 psi
Nhiệt độ nguồn ion (TEM): 500 °C	Khí va chạm (CAD): 8
Thông số TOF MS	
Khoảng phổ (mass range): 50 – 1000 Da	Thế đầu vào (DP): 80 V, năng lượng bắn phá (CE): 10±0 V
Thông số TOF MSMS	
Khoảng phổ (Mass range): 50 – 1000 Da	CE = 35±15 V

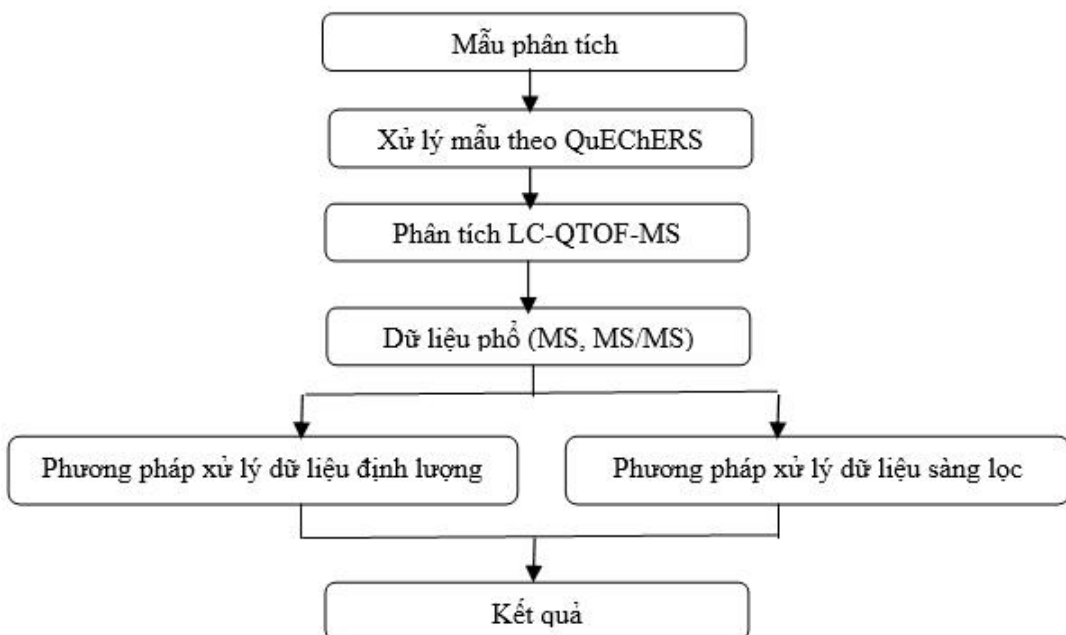
2.4.3. Phương pháp xử lý dữ liệu

Phương pháp định lượng, sử dụng phần mềm SCIEX OS của hệ thống X500R QTOF để thực hiện phân tích dữ liệu định lượng theo các bước sau: (1) lựa chọn lưu trình Quantitation and targeted indentification; (2) khai báo thông tin các chất chuẩn HCBVTV; (3) cài đặt các tham số tích hợp định lượng; (4) chọn nguồn thư viện để so sánh; (5) cài đặt điều kiện định danh; (6) nhập nồng độ các điểm chuẩn của từng HCBVTV và phần mềm tự động xử lý để đưa ra kết quả.

Phương pháp sàng lọc tìm kiếm HCBVTV nghi ngờ, sử dụng phần mềm SCIEX OS của hệ thống X500R QTOF để thực hiện phân tích dữ liệu sàng lọc theo các bước sau: (1) lựa chọn lưu trình “non-target screening”; (2) cài đặt các thông số định danh; (3) chọn nguồn thư viện dữ liệu của mẫu được so sánh với thư viện phổ “LibraryView” được cung cấp cùng với hệ thống X500R QTOF để dự đoán các hợp chất; (4) chọn mẫu trắng/mẫu kiểm soát để tham chiếu. Sau khi sử dụng phần mềm để dự đoán các chất, việc xác nhận một hoạt chất có mặt trong mẫu được thể hiện qua độ khớp với các chất có trong thư viện phổ. Các chất có mảnh phổ khớp nhất với thư viện được thể hiện thông qua các thông số: độ chệch khối (Mass error), độ khớp thư viện phổ MS/MS (Library score), tỉ lệ khác biệt đồng vị (Different isotop ratio). Bằng cách cài đặt giá trị các thông số với tiêu chí quy định, phần mềm tự động sàng lọc để đưa ra gợi ý HCBVTV nghi ngờ. Các dữ liệu sẽ được kiểm tra và đánh giá bởi kiểm nghiệm viên để đưa ra kết quả phù hợp nhất.

2.4.4. Quy trình thực hiện

Quá trình thực hiện phân tích mẫu bằng phương pháp định lượng và sàng lọc được thực hiện qua các bước như trong Hình 1.



Hình 1. Quy trình phân tích mẫu

2.4.5. Thẩm định Phương pháp

2.4.5.1. Phương pháp định lượng với chất chuẩn

Tiến hành xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp định lượng 186 HCBVTV trên 3 nền mẫu rau, củ và quả. Thẩm định phương pháp thông qua các thông số giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, đường chuẩn và khoảng tuyến tính, độ đúng, độ lặp lại.

2.4.5.2. Phương pháp sàng lọc tìm kiếm HCBVTV nghi ngờ với thư viện phổ phân giải cao

Ước lượng và thẩm tra giá trị giới hạn phát hiện sàng lọc (SDL). Để xác định giá trị SDL đối với các hoạt chất có trong thư viện, sử dụng 186 HCBVTV đã lựa chọn như trong Bảng S1 để đại diện chia vào 17 nhóm hóa chất gồm 500 chất trong thư viện phổ, trong đó mỗi nhóm chứa tối thiểu 20% các HCBVTV có sẵn chuẩn để thực hiện thẩm định phương pháp sàng lọc. Tiến hành xác nhận giá trị sử dụng (XNGTSD) của phương pháp sàng lọc trên tối thiểu 20 mẫu lặp với 03 nền mẫu đại diện cho rau, củ và quả. Phân tích các mẫu trắng và mẫu trắng thêm chuẩn tại 4 mức nồng độ là 10, 20, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, từ đó ước lượng được giá trị SDL của phương pháp.

Tiêu chí thẩm định phương pháp định lượng và sàng lọc được tham chiếu theo hướng dẫn SANTE 11312/2021 của Ủy ban châu Âu [16].

Ngoài ra, phương pháp còn được thẩm tra, đánh giá thông qua việc phân tích các mẫu kiểm soát chất lượng (QCM) của Fapas (Anh) và mẫu thử nghiệm thành thạo do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia tổ chức trong năm 2023.

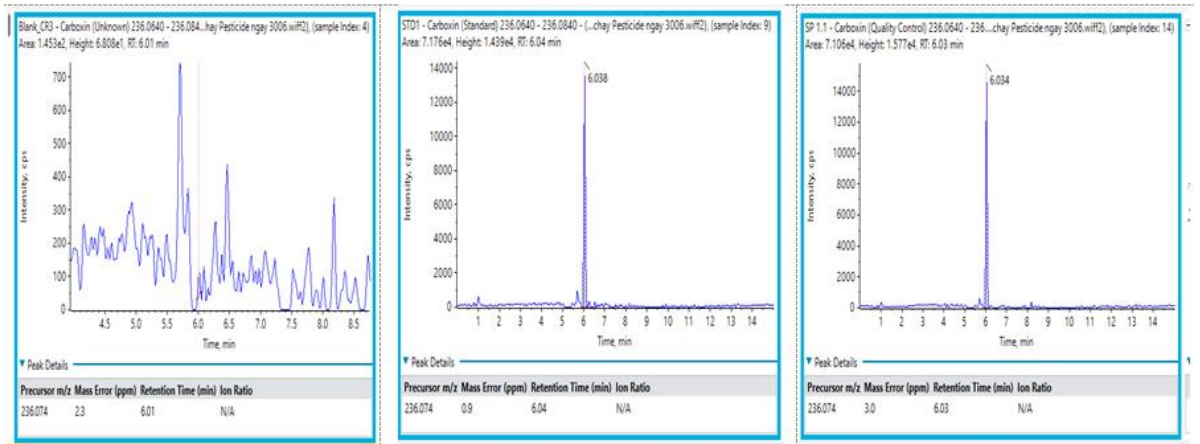
2.4.6. Phân tích mẫu thực tế

Phương pháp được áp dụng để phân tích 160 mẫu rau củ quả, trong đó có 109 mẫu rau, 13 mẫu củ và 38 mẫu trái cây, được gửi đến phòng kiểm nghiệm trong khoảng thời gian 06 tháng đầu năm 2023.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Kết quả XNGTSD phương pháp định lượng

Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ): Tiến hành phân tích mẫu trắng thêm chuẩn ở nồng độ thấp còn có thể xuất hiện tín hiệu chất phân tích, xử lý mẫu theo quy trình nêu tại mục 2.4.1, và thực hiện lặp lại 07 lần. Xác định tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu (S/N) theo phần mềm của thiết bị. Theo lý thuyết, giới hạn phát hiện là nồng độ mà tại đó có $S/N = 3$ và giới hạn định lượng $LOQ = 3,3 \times LOD$. Kết quả phương pháp có giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng cho 186 hóa chất lần lượt là 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ và 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$, các kết quả này đều đáp ứng $S/N \geq 3$ tại LOD. Hình 2 minh họa các sắc ký đồ mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu trắng thêm chuẩn tại nồng độ 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ của carboxin.



Hình 2. Sắc ký đồ mẫu trắng (A), mẫu chuẩn tại nồng độ 10 µg/kg (B) và mẫu trắng thêm chuẩn tại nồng độ 10 µg/kg (C) của carboxin

Đường chuẩn: Đường chuẩn của 186 chất được xây dựng trên dịch chiết của 03 nền mẫu trắng cải bắp, cà rốt và kiwi nêu tại mục 2.1, gồm 5 điểm có nồng độ nằm trong khoảng 3,0 – 50 µg/kg.

Hệ số tương quan (R^2) nằm trong khoảng 0,995-0,999 và độ chệch tại các điểm đều nhỏ hơn 15%. Hình 3 minh họa đường chuẩn của furathiocarb trong nền bắp cải.



Hình 3. Đường chuẩn 3,0-50 µg/kg của furathiocarb trong nền bắp cải

Độ đúng và độ lặp lại: thực hiện phân tích trên 03 mẫu trắng đại diện được thêm chuẩn ở 03 mức nồng độ là 10, 20, và 100 µg/kg, mỗi nồng độ được phân tích lặp lại 7 lần riêng biệt. Kết quả đánh giá độ đúng và độ lặp lại được thể hiện trong Bảng 3.

Bảng 3. Hiệu suất thu hồi và độ lặp lại của phương pháp

STT	Nhóm chất phân tích	Độ lặp lại RSD (%)			Hiệu suất thu hồi H (%)		
		10 $\mu\text{g/kg}$	20 $\mu\text{g/kg}$	100 $\mu\text{g/kg}$	10 $\mu\text{g/kg}$	20 $\mu\text{g/kg}$	100 $\mu\text{g/kg}$
1	Nhóm Imidazolinone	8,7-20	9,2-17	7,6-11	95,4-102	92,7-102	82,6-92,3
2	Nhóm triazolone	3,7-18	2,4-15	3,4-15	80,8-110	83,3-114	96,6-113
3	Nhóm triazolopyrimidine	2,9-5,6	3,4-8,9	2,6-6,4	90,7-112	93,0-114	82,6-109
4	Nhóm benzoylurea	5,1-12	4,0-15	3,5-12	84,1-113	89,2-105	88,0-107
5	Nhóm neonicotinoid	2,2-16	1,3-14	1,8-7,7	91,9-114	92,6-116	104-113
6	Nhóm strobilurin	1,7-8,2	2,0-8,4	2,4-6,3	91,2-116	96,0-116	97,0-112
7	Nhóm pyrazole	3,8-13	2,3-7,9	3,0-5,4	101-114	105-113	99,3-107
8	Nhóm pyridine	5,3-11	2,1-14	2,4-6,3	92,3-112	93,4-116	97,3-113
9	Nhóm chloroacetamide	3,0-9,0	1,8-17	1,7-4,4	101-110	97,2-116	101-114
10	Nhóm macrocyclic lacton	0,78-13	1,5-15	1,9-11	79,1-115	82,8-111	91,1-114
11	Nhóm triazine	1,4-13	1,7-17	1,3-19	96,9-113	97,3-117	86,3-114
12	Nhóm amide	1,9-16	1,5-13	2,1-12	85,7-116	90,8-117	91,4-114
13	Nhóm triazole	0,70-16	2,5-18	1,3-9,5	81,5-116	74,4-116	79,7-114
14	Nhóm urea	2,1-17	1,8-18	2,0-19	86,0-114	89,7-116	76,6-113
15	Nhóm Phosphor hữu cơ	1,2-14	1,1-13	0,86-8,3	86,9-117	85,5-118	86,4-114
16	Nhóm carbamate	2,6-20	2,2-17	1,1-19	82,5-115	83,8-117	89,3-116
17	Nhóm khác	0,74-18	1,4-20	1,2-18	81,0-117	77,8-117	74,8-116

Kết quả từ Bảng 3 cho thấy, hiệu suất thu hồi trên các nền mẫu đại diện trong khoảng nồng độ 10-100 $\mu\text{g/kg}$ dao động trong khoảng 74,4 - 118% với $RSD \leq 20\%$. Như vậy, độ lặp lại và độ thu hồi đều đáp ứng yêu cầu khoảng cho phép theo SANTE 11312/2021 (hiệu suất thu hồi: 70-120%, $RSD \leq 20\%$). Phương pháp được áp dụng để phân tích định lượng các HCBVTV trong mẫu thực tế.

3.2. Thẩm định phương pháp sàng lọc

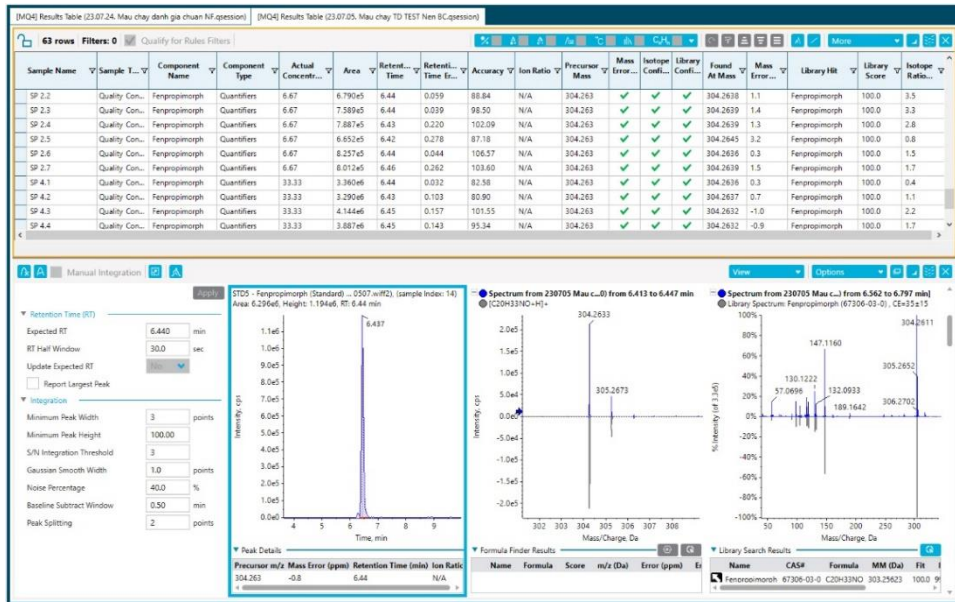
Tiêu chí chấp nhận kết quả XNGTSD phương pháp sàng lọc: giới hạn phát hiện sàng lọc là nồng độ thấp nhất mà tại đó một chất phân tích được phát hiện ít nhất đạt 95% trong mẫu [16]. Sử dụng phần mềm SCIEX OS để sàng lọc mẫu dương tính với các thông số đáp ứng được các điều kiện được trình bày trong Bảng 4 [14].

Bảng 4. Thông số sàng lọc mẫu phân tích trên thiết bị LC-QTOF-MS

Độ lệch khối	Độ khớp thư viện phổ MS/MS	Tỉ lệ khác biệt đồng vị
$\leq 5 \text{ ppm}$	$\geq 80\%$	$\leq 20\%$

Thực hiện phân tích trên các mẫu trắng đại diện (bắp cải, cà rốt, kiwi) được thêm tại các mức nồng độ 10, 20, 50 và 100 $\mu\text{g/kg}$, mỗi mức thực hiện 7 lần. Như vậy, tổng cộng có 21 mẫu rau, củ và quả lặp lại tại mỗi mức nồng độ. Thực hiện so sánh mức độ tương đồng về phổ giữa HCBVTV trong mẫu với thư viện, mẫu được coi là dương tính với các chất khi cả 03 thông số độ lệch khối, độ khớp thư viện phổ MS/MS, tỉ lệ khác biệt đồng vị phải

đạt tiêu chí như trên. Hình 4 minh họa mức độ khớp giữa hợp chất fenpropimorph có trong mẫu thêm chuẩn so với thư viện phổ QTOF X500R.

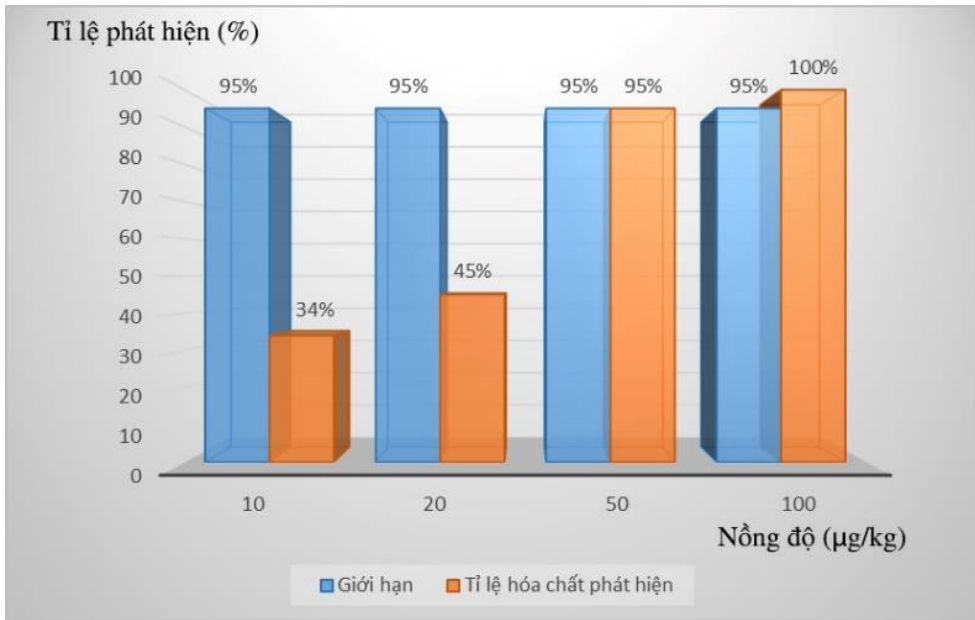


Hình 4. Sắc ký đồ, phổ MS và MS/MS của fenpropimorph tại 100 µg/kg

Dựa vào kết quả thu được, tổng hợp kết quả sàng lọc phát hiện các chất chuẩn đã thêm trên 03 nền mẫu trắng đại diện cho 03 đối tượng rau, củ, quả, khớp với các chất trong thư viện phổ được biểu diễn qua Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả sàng lọc các hóa chất trong các nhóm HCBVTV

Nhóm hóa chất	Số HCBVTV	10 µg/kg		20 µg/kg		50 µg/kg		100 µg/kg	
		Số chất phát hiện (%)	Tỉ lệ (%)	Số chất phát hiện (%)	Tỉ lệ (%)	Số chất phát hiện (%)	Tỉ lệ (%)	Số chất phát hiện (%)	Tỉ lệ (%)
Nhóm Phosphor hữu cơ	28	9	32	12	43	26	93	28	100
Nhóm carbamate	20	4	20	7	35	19	95	20	100
Nhóm triazine	10	3	30	5	50	10	100	10	100
Nhóm triazole	21	4	19	4	19	19	90	21	100
Nhóm urea	17	5	29	6	35	15	88	17	100
Nhóm amide	10	4	40	4	40	10	100	10	100
Nhóm macrocyclic lacton	8	3	38	4	50	8	100	8	100
Nhóm neonicotinoid	5	1	20	1	20	5	100	5	100
Nhóm strobilurin	6	4	67	6	100	6	100	6	100
Nhóm benzoylurea	4	0	0	1	25	3	83	4	100
Nhóm chloroacetamide	3	0	0	1	33	3	100	3	100
Nhóm pyrazole	2	0	0	2	100	2	100	2	100
Nhóm pyridine	3	1	33	1	33	3	100	3	100
Nhóm triazolone	2	1	50	1	50	2	100	2	100
Nhóm triazolopyrimidine	2	1	67	1	50	2	100	2	100
Nhóm Imidazolinone	1	0	33	1	100	1	100	1	100
Nhóm khác	44	23	53	26	59	42	95	44	100
Tổng số	186	64	34	83	45	176	95	186	100



Hình 5. Biểu đồ kết quả sàng lọc HCBVTV trong mẫu rau củ quả

Theo kết quả ở Bảng 5 và Hình 5 cho thấy, tỉ lệ phát hiện các hóa chất trong các nhóm tăng lên theo mức nồng độ. Trong 21 mẫu rau củ quả, tại mức nồng độ 10 µg/kg phát hiện khoảng 34% các hóa chất, khi nồng độ tăng lên gấp 5 lần là 50 µg/kg thì đã có thể phát hiện được 95% các hóa chất khớp với thư viện phổ, ứng với nồng độ này phương pháp đạt ngưỡng phát hiện sàng lọc. Tại nồng độ 100 µg/kg phát hiện được 100% hóa chất trong tất cả các nhóm có thông số sàng lọc khớp với thư viện phổ, vượt tiêu chí đưa ra. Tuy nhiên, để đảm bảo được độ tin cậy cao khi sàng lọc và có thể phát hiện được 500 hóa chất trong thư viện phổ, lựa chọn giới hạn phát hiện sàng lọc của phương pháp là 100 µg/kg.

Theo quy định hiện hành của Việt Nam, tùy thuộc vào các HCBVTV trên các đối tượng rau, củ quả khác nhau mà giới hạn tối đa dư lượng bảo vệ thực vật (MRL) là khác nhau (dao động từ 10 µg/kg-300.000 µg/kg) [17]. Với ngưỡng giới hạn phát hiện sàng lọc này, tuy không đáp ứng sàng lọc trong một số trường hợp có mức MRL < 100 µg/kg, nhưng khi phát hiện các hoạt chất mới với mức tin cậy cao sẽ là căn cứ giúp kết luận chính xác hơn các chất có mặt trong mẫu, từ đó hạn chế phần nào nguy cơ bỏ sót các hóa chất đang gặp phải trên các kỹ thuật khác. Mặt khác, với nhiệm vụ tìm kiếm các hóa chất mới để bổ sung vào danh mục các chất cần định lượng cũng là một trong những lý do để thực hiện nghiên cứu này.

3.3. Kết quả thẩm tra, kiểm chứng phương pháp qua phân tích mẫu QCM, TNTT

3.3.1. Đánh giá kết quả của phương pháp thông qua mẫu QCM

Sử dụng phương pháp sàng lọc và định lượng các HCBVTV để phân tích mẫu kiểm soát chất lượng nền rau bắp cải được cung cấp từ Fapas (Anh). Mẫu được phân tích trong 2 thời điểm khác nhau, tại mỗi thời điểm mẫu được tiến hành lặp lại 02 lần. Kết quả phân tích định lượng và sàng lọc tìm kiếm các HCBVTV nghi ngờ được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả phân tích mẫu QCM của Fapas

Tên hóa chất	Kết quả định lượng ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		Kết quả sàng lọc tìm kiếm HCBVTV nghi ngờ		
	Kết quả của PKN	Khoảng chấp nhận của QCM	Độ chệch khối (ppm)	Độ khớp thư viện phổ MS/MS	Tỉ lệ khác biệt đồng vị
Bendiocarb	49,3	41,3-106	1,2	96,9	5,4
Bitertanol	-	59,0-152	1,4	90,5	2,9
Carbofuran	-	14,8-38,1	1,2	99,5	13
Diazinon	20,6	12,9-33,1	1,1	100	1,3
Dichlorvos	-	73,0-185	1,9	99,6	3,8
Flusilazole	49,1	45,4-117	-0,2	99,6	1,4
Imidacloprid	34,5	27,8-71,4	1,9	99,7	2,8
Phenthoate	-	28,7-73,7	1,8	90,6	1,1
Phoxim	57,5	32,5-83,5	2,4	94,2	2,2

Kết quả thực hiện mẫu kiểm soát chất lượng của Fapas đều đạt yêu cầu về kết quả định lượng (nằm trong khoảng chấp nhận của QCM) và sàng lọc (phát hiện 100% các hóa chất trong mẫu QCM). Đặc biệt, đối với một số HCBVTV nằm ngoài danh sách 186 chất chuẩn (bitertanol, carbofuran, dichlorvos và phenthoate), khi xử lý kết quả bằng phương pháp sàng lọc, mặc dù các chất này có nồng độ thấp hơn so với ngưỡng sàng lọc là 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ nhưng đều cho kết quả phát hiện có trong mẫu với độ khớp của cả 03 thông số định danh tương đối cao.

3.3.2. Đánh giá của phương pháp thông qua mẫu thử nghiệm thành thạo

Thực hiện phân tích mẫu TNTT xác định HCBVTV trong cà chua được NIFC tổ chức, kết quả phân tích sàng lọc và định lượng các hợp chất trong Bảng 7 dưới đây.

Bảng 7. Kết quả phân tích mẫu TNTT của NIFC-năm 2023

Tên hóa chất	Kết quả định lượng ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		Kết quả sàng lọc tìm kiếm HCBVTV nghi ngờ của PKN		
	Kết quả của PKN	Khoảng chấp nhận	Độ chệch khối (ppm)	Độ khớp thư viện phổ MS/MS	Tỉ lệ khác biệt đồng vị
Difenoconazole	667	437 - 743	0,7	100	3,3
Acetamiprid	303	121 - 307	0,8	99,2	0,5
Imidacloprid	607	399 - 665	0,5	99,7	1,0
Indoxacarb	593	449 - 657	0,1	99,6	2,1
Profenofos	8133	7116 - 9524	-3,8	99,4	2,2
Buprofezin	1040	614 - 1234	-3,4	100	2,6

Kết quả định lượng của các HCBVTV đều nằm trong khoảng chấp nhận các kết quả của chương trình TNTT. Bên cạnh đó, áp dụng phương pháp sàng lọc cũng đã phát hiện 100% các hoạt chất trong có trong mẫu. Như vậy, phương pháp phân tích định lượng và sàng lọc mẫu TNTT đều đạt yêu cầu về định lượng và sàng lọc phát hiện các hóa chất trong mẫu.

3.4. Phân tích mẫu thực tế

3.4.1. Ứng dụng phương pháp định lượng HCBVTV trong phân tích mẫu

Phương pháp định lượng các HCBVTV được ứng dụng để phân tích 160 mẫu rau củ quả đã gửi đến PKN trong khoảng thời gian 6 tháng đầu năm 2023. Kết quả định lượng các hóa chất được trình bày trong Bảng 8.

Bảng 8. Kết quả phân tích định lượng mẫu thực tế

Tên hóa chất/ phân nhóm rau củ quả	Rau (109 mẫu)		Củ (13 mẫu)		Trái cây (38 mẫu)	
	Số mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Số mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Số mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Metalaxyl	10	$\leq 10 - 110$	0	KPH	1	≤ 10
Imidacloprid	13	$\leq 10 - 900$	1	20	4	40 - 1610
Thiamethoxam	8	10 - 180	2	$\leq 10 - 30$	3	10 - 100
Pyridaben	4	$\leq 10 - 1080$	0	KPH	0	KPH
Spirotetramat	1	70	0	KPH	1	≤ 10
Chlorfluazuron	2	$\leq 10 - 170$	0	KPH	0	KPH
Etoazole	1	≤ 10	0	KPH	1	≤ 10
Dimethomorph	3	$\leq 10 - 320$	1	50	0	KPH
Clothianidin	4	10 - 30	0	KPH	3	$\leq 10 - 550$
Difenoconazole	11	20 - 1430	0	KPH	5	10 - 50
Hexaconazole	5	$\leq 10 - 200$	0	KPH	2	$\leq 10 - 10$
Chlorantraniliprole	14	$\leq 10 - 1500$	0	KPH	4	$\leq 10 - 30$
Metaflumizone	2	$\leq 10 - 70$	0	KPH	0	KPH
Tebuconazole	2	$\leq 10 - 280$	0	KPH	1	30
Buprofezin	3	$\leq 10 - 310$	0	KPH	2	$\leq 10 - 10$
Acetamiprid	6	40 - 6890	1	20	1	40
Pencycuron	3	$\leq 10 - 6660$	0	KPH	1	120
Boscalid	1	≤ 10	0	KPH	1	1030
Trifloxystrobin	3	$\leq 10 - 60$	0	KPH	2	10 - 20
Azoxystrobin	9	$\leq 10 - 4090$	0	KPH	3	$\leq 10 - 130$
Propiconazole	3	$\leq 10 - 550$	0	KPH	0	KPH
Malathion	0	KPH	0	KPH	2	10 - 70
Cyprodinil	0	KPH	0	KPH	2	380
Fluopyram	0	KPH	0	KPH	3	$\leq 10 - 40$
Pyrimethanil	0	KPH	0	KPH	2	$\leq 10 - 40$
Iprovalicarb	1	70	0	KPH	0	KPH
Pyraclostrobin	0	KPH	0	KPH	1	≤ 10
Fonicamid	1	10	0	KPH	0	KPH
Myclobutanil	0	KPH	0	KPH	1	≤ 10

Tên hóa chất/ phân nhóm rau củ quả	Rau (109 mẫu)		Củ (13 mẫu)		Trái cây (38 mẫu)	
	Số mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Số mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Số mẫu phát hiện	Khoảng nồng độ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Quinoxifen	0	KPH	0	KPH	1	≤ 10
Spinetoram	4	$\leq 10 - 50$	0	KPH	1	≤ 10
Thiacloprid	0	KPH	0	KPH	1	≤ 10
Fenobucarb	0	KPH	0	KPH	2	20 - 50
Fenpyroximate	0	KPH	0	KPH	1	10
Imazalil	0	KPH	0	KPH	2	$\leq 10 - 10$
Paclbutrazol	0	KPH	0	KPH	1	70
Thiophanate-methyl	0	KPH	0	KPH	1	≤ 10
Dimethoate	0	KPH	0	KPH	1	20
Omethoate	0	KPH	0	KPH	1	60
Phoxim	0	KPH	0	KPH	1	30
Emamectin benzoate	1	≤ 10	0	KPH	0	KPH
Mandipropamid	2	20 - 80	0	KPH	0	KPH

Ghi chú: “KPH”- không phát hiện với ngưỡng LOD là 3,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$

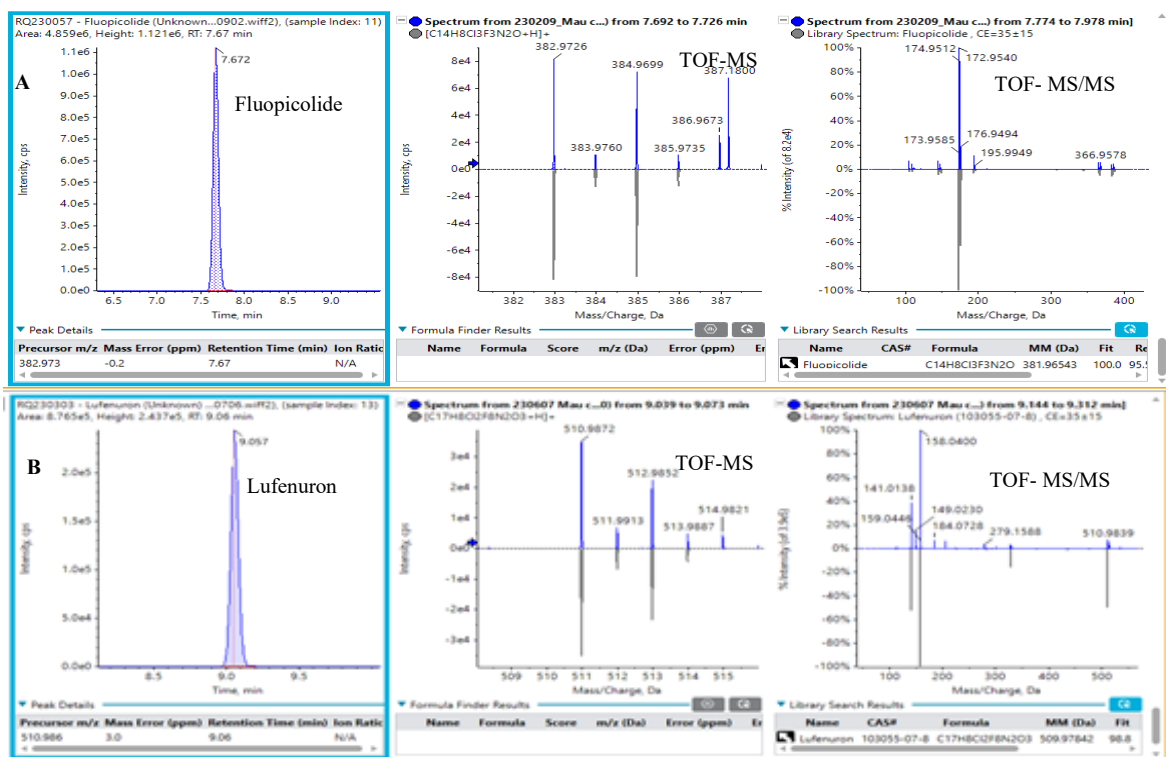
PKN đã phát hiện và định lượng 42 HCBVTV trong các mẫu rau, củ và quả. Trong đó, đa số các hóa chất này được tìm thấy trong rau và trái cây, còn lại một số ít được tìm thấy trong nhóm củ. Nhóm rau phát hiện HCBVTV là nhiều nhất khoảng 68%, trong khi đó nhóm củ phát hiện ít nhất, chỉ bằng một nửa rau (khoảng 38%). Một số các hóa chất gồm imidacloprid, chlorantraniliprole, difenoconazole, thiamethoxam, azoxystrobin thường phát hiện đồng thời trong rau và trái cây. Các loại rau cải, rau gia vị và các loại quả có múi như cam, quýt thường phát hiện chứa rất nhiều HCBVTV. Một số HCBVTV được phát hiện trong các mẫu rau, quả đang vượt mức quy định tại Việt Nam như imidacloprid trong quả quýt vượt gấp 1,6 lần, pencycuron trong rau xà lách vượt gấp hơn 2 lần so với giới hạn cho phép theo thông tư số 50/2016/TT-BYT [10]. Một số HCBVTV khác chưa có trong quy định tại Việt Nam nhưng theo qui định của Đài Loan [18] hay Châu Âu [19] thì kết quả cũng vượt ngưỡng quy định như acetamiprid, difenoconazole trong rau cải (gấp hơn 1,4 lần so với qui định của Đài Loan), paclbutrazole trong quả quýt gấp 7 lần so với quy định của Châu Âu.

3.4.2. Ứng dụng phương pháp sàng lọc để tìm kiếm hoạt chất khác có trong mẫu

Lựa chọn 60 mẫu phát hiện nhiều các HCBVTV trong tổng số 160 mẫu rau, củ, quả đã thực hiện phân tích định lượng ở trên cho phương pháp xử lý sàng lọc để tìm kiếm các HCBVTV mới. Kết quả, ngoài phát hiện các hóa chất đã định lượng ở trên, mẫu còn được phát hiện thêm các chất mới có trong thư viện được liệt kê trong Bảng 9 và Hình 6.

Bảng 9. Kết quả sàng lọc mẫu rau, củ và quả

TT	Tên chất	Nền mẫu	Số mẫu phát hiện/ 60 mẫu	Kết quả sàng lọc			
				Diện tích	Độ lệch khối (ppm)	Độ khớp thư viện phổ MS/MS	Tỉ lệ khác biệt đồng vị
1	Ethion	Quả quýt	1	1,79.10 ⁵	2,0	99,4	2,3
2	Piperonyl butoxide	Ớt	1	2,71.10 ⁴	4,7	97,9	1,9
3	Fludioxonil	Táo, lê	2	1,62.10 ⁵ -2,12.10 ⁵	1,3 - 1,4	100	3,6 - 3,9
4	Tolfenpyrad	Rau cải	2	7,10.10 ⁶ -2,60.10 ⁷	-2,1 - 2,1	96,5 - 99,6	6,3 - 8,4
5	Flubendiamide	Rau cải, cần tây	3	7,30.10 ³ -3,80.10 ⁵	1,8 - 2,5	96,5 - 100	2,9 - 3,7
6	Metolachlor	Rau răm, cần tây	3	4,80.10 ³ -3,40.10 ⁴	1,9 - 2,7	95,3 - 96,9	6,9 - 20
7	Cyromazine	Rau cải, cải cúc, quả mướp	5	2,50.10 ⁵ -8,20.10 ⁶	-0,4 - 2,6	98,6 - 99,9	0,9 - 3,9
8	Lufenuron	Rau cải, cần tây, xà lách	5	9,50.10 ⁴ -8,70.10 ⁵	0,7 - 4,0	98,8 - 100	2,0 - 17
9	Fluopicolide	Rau cải, cần tây, xà lách	7	1,10.10 ⁴ -4,80.10 ⁶	-1,2 - 4,0	83,0 - 100	3,2 - 14



Hình 6. Kết quả phát hiện fluopicolide trong rau cải (A) và lufenuron trong rau xà lách (B)

Dựa vào độ khớp các thông số trong thư viện phù hợp với tiêu chí sàng lọc, đã tìm được 9 HCBVTV mới trong 19 mẫu rau củ quả, chiếm hơn 31% số mẫu được lựa chọn để xử lý sàng lọc. Trong bảng 9 các HCBVTV phát hiện được đều đáp ứng với tiêu chí sàng

lọc đã đưa ra trong mục 3.2. Các hóa chất này được tìm thấy chủ yếu trong mẫu rau. Đây là cơ sở để bổ sung vào danh mục các HCBVTV cần định lượng theo dõi trong thời gian tới.

4. KẾT LUẬN

Như vậy, nghiên cứu đã thành công trong việc xây dựng 01 phương pháp phân tích dư lượng HCBVTV trên LC-QTOF-MS, thu được đồng thời 02 kết quả định lượng và sàng lọc tìm kiếm HCBVTV nghi ngờ trong một lần phân tích. Phương pháp đã được thẩm định để định lượng 186 các HCBVTV trong rau củ quả đạt yêu cầu theo SANTE 11312/2021. Mặt khác, phương pháp sàng lọc nhằm tìm kiếm, phát hiện các HCBVTV mới có trong mẫu bằng cách so sánh với 500 hóa chất trong thư viện phổ phân giải cao kèm theo thiết bị, giúp bổ sung các chất này vào danh mục kiểm nghiệm để định lượng trong PKN. Bước đầu nghiên cứu thành công trong việc sử dụng phương pháp sàng lọc để giám sát các HCBVTV chưa có chuẩn nhằm giảm thiểu nguy cơ bỏ sót các chất trong mẫu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Ministry of Agricultural and Rural Development (Vietnam), *Circular No. 19/2022/TT-BNNPTNT dated December 02, 2022 promulgating lists of approved and prohibited plant protection chemicals in Vietnam, 2022.*
- [2]. G. F. Pang, Y. M. Liu, C. L. Fan, J. J. Zhang, et al., "Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 384, no. 6, pp. 1366-1408, 2006.
- [3]. Y. J. Lian, G. F. Pang, H. R. Shu, C. L. Fan, et al., "Simultaneous determination of 346 multiresidue pesticides in grapes by PSA-MSPD and GC-MS-SIM," *J Agric Food Chem*, vol. 58, no.17, pp. 9428-9453, 2010.
- [4]. S. H. Cui, W. S. Chen, J. L. Qian, et al., "Determination of 193 pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography-mass spectrometry," *Chinese J. Chromatography*, vol. 31, issue 9, pp. 885-893, 2013.
- [5]. L. Pareja, V. Cesio, H. Heinzen, A. R. Fernandez-Alba, "Evaluation of various QuEChERS based methods for the analysis of herbicides and other commonly used pesticides in polished rice by LC-MS/MS," *Talanta*, vol. 83, issue 5, pp. 1613-1622, 2011.
- [6]. Z. Zhang, Q. L. Wang, L. L. Cao, et al., "Determination of 250 pesticide residues in vegetables using QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Chinese Journal of Chromatography*, vol. 34, pp. 158-164, 2016.
- [7]. T. C. Son, *Determination of pesticide multi-residues in medicinal plants and herbal products by gas and liquid chromatography tandem mass spectrometry*, Doctoral dissertation, Hanoi University of Pharmacy, Hanoi, 2015 (in Vietnamese).

- [8]. H. F. Deng, J. Y. Zhang, K. Huang, et al., “Determination of 105 pesticide residues in vegetables by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry,” *Chinese Journal of Chromatography*, vol. 36, pp. 1211-1222, 2018.
- [9]. J. Ma, S. Fan, L. Yang, L. He, H. Zhai, X. Ren, Q. Li, Y. Zhang, “Rapid screening of 420 pesticide residues in fruits and vegetables using ultra high performance liquid chromatography combined with quadrupole-time of flight mass spectrometry,” *Food Science and Human Wellness*, vol. 12, issue 4, pp. 1064-1070, 2023.
- [10]. Z. Y. Zhao, Z. H. Shi, J. Kang, et al., “Rapid screening and confirmation of 281 pesticide residues in apples, tomatoes and cabbages by liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry,” *Chinese Journal of Chromatography*, vol. 31, pp. 372-379, 2013.
- [11]. Compendium of Pesticide Common Names. [Online]. Available: <http://www.bcpcpesticidecompendium.org/index.html> [Accessed 07/07/2023].
- [12]. University of Hertfordshire, Pesticide Properties DataBase (PPDB). [Online]. Available: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm> [Accessed 10/07/2023].
- [13]. AOAC International, “AOAC Official Method 2007.01 - Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate,” *Official Method of Analysis of AOAC International*, 19th edition, AOAC, USA, 2012.
- [14]. Compendium of relate research applications. [Online]. Available: <https://sciex.com/content/dam/SCIEX/pdf/tech-notes/all/X500RCompendium.pdf> [Accessed 07/07/2023].
- [15]. X. Sun, H. Cheng, L. Li, W. Jin. “X500R QTOF System with SWATH® Acquisition for Pesticide Residue Screening in Fruits and Vegetables,” *Food and Environmental*, SCIEX, Asia Pacific Application Support Center (Shanghai), China, 2017.
- [16]. European Commission, *Method Validation and Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed*, SANTE 11312/2021.
- [17]. Ministry of Health (Vietnam), *Circular No. 50/2016/TT-BYT December 30, 2016 Regulation on maximum residue levels of pesticides in Food*, 2016.
- [18]. Ministry of Health and Welfare (Taiwan), “*Standards for Pesticide Residue Limits in Foods*,” 2023.
- [19]. European Commission, EU Pesticides Database, [Online]. Available: https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en [Accessed 15/09/2023].

BẢNG SI. BẢNG LỰA CHỌN HCBVTV ĐẠI DIỆN THEO PHẦN NHÓM TRONG THƯ VIỆN PHỔ PHẦN GIẢI CAO HÃNG SCIE X - MỸ							
TT	Tên nhóm	Lựa chọn HCBVTV đại diện			Thư viện		Tỉ lệ (%)
		Tên hóa chất	Số lượng	Khoảng Log Kow	Số lượng	Khoảng Log Kow	
1	Nhóm imidazolinone	Imazethapyr	1	1,49	5	-1,09 - 1,54	20
2	Nhóm triazolone	Carfentrazone-ethyl, tricyclazole	2	1,40 - 3,70	6	-1,98 - 3,70	33
3	Nhóm triazolopyrimidine	Fluopyram, penoxsulam	2	-0,60 - 3,30	6	-1,01 - 3,3	33
4	Nhóm benzoylurea	Chlorfluazuron, flufenoxuron, teflubenzuron, novaluron	4	4,30 - 5,80	9	3,89 - 6,97	44
5	Nhóm neonicotinoid	Acetamiprid, clothianidin, imidacloprid, thiacloprid, thiamethoxam	5	-0,13 - 1,26	9	-0,66 - 1,26	56
6	Nhóm strobilurin	Pyraclostrobin, azoxystrobin, dimoxystrobin, fluoxastrobin, picoxystrobin, trifloxystrobin	6	2,50 - 4,50	10	2,50 - 4,50	60
7	Nhóm pyrazole	Chlorantraniliprole, tebufenpyrad	2	2,86 - 4,93	10	-1,52 - 5,61	20
8	Nhóm pyridine	Pymetrozine, flonicamid, boscalid	3	-0,24 - 2,96	10	-2,63 - 5,88	30
9	Nhóm chloroacetamide	Alachlor, acetochlor, propachlor	3	1,60 - 4,14	11	1,60 - 4,14	27
10	Nhóm macrocyclic lacton	Avermectin B1a, emamectin B1b, eprinomectin B1a, ivermectin B1a, spinetoram A, spinetoram B, spinosyn, emamectin benzoate	8	2,80 - 4,40	13	2,80 - 4,40	62
11	Nhóm triazine	Ametryn, atrazine, atrazine-desethyl, methoprotryne, prometon, prometryn, simazine, simetryn, terbuneton, terbutryn	10	1,51 - 3,66	21	1,51 - 3,95	48
12	Nhóm amide	Flutolanil, propyzamide, carpropamid, benalaxyl, carboxin, fenhexamid, metalaxyl, furalaxyl, mandipropamid, propanil	10	1,75 - 4,25	29	-1,20 - 4,70	34
13	Nhóm triazole	Bromuconazole, difenoconazole, diniconazole, epoxiconazole, etaconazole, fluquinconazole, flusilazole, flutriafol, hexaconazole, metconazole, myclobutanil, paclobutrazol, penconazole, propiconazole, prothioconazole, tebuconazole, tetraconazole, triadimefon, triadimenol, triticonazole, fenbuconazole	21	2,00 - 4,30	32	-0,97 - 4,94	66
14	Nhóm urea	Ethoxysulfuron, cyclosulfamuron, pyrazosulfuron-ethyl, chlorotoluron, chloroxuron, diuron, fluometuron, isoproturon, linuron, methabenzthiazuron, metabromuron, monolinuron, neburon, pencycuron, siduron, thidiazuron, tebuthiuron	17	0,43 - 4,68	57	-1,87 - 4,68	30
15	Nhóm phosphor hữu cơ	Fenamiphos, iprobenfos, methidathion, omethoate, phosalone, pirimiphos-ethyl, pirimiphos-methyl, profenofos, sulprofos, diazinon, fenthion-sulfoxide, triazophos, coumaphos, edifenphos, mecarbam, mevinphos, monocrotophos, phosphamidon, phoxim, propetamphos, sulfotep, temephos, trichlorfon, vamidothion, fensulfothion, azinphos-ethyl, dimethoate, malathion	28	-4,21 - 5,48	96	-4,21 - 6,15	29
16	Nhóm carbamate	3-Hydroxycarbofuran, aminocarb, bendiocarb, carbaryl, carbetamide, ethiofencarb, fenobucarb, fenoxycarb, furathiocarb, iprovalicarb, isoprocarb, methiocarb, molinate, pirimicarb, promecarb, propamocarb, thiodicarb, thiophanate-methyl, thiobencarb, tri-allate	20	0,84 - 4,60	56	-0,57 - 7,42	36
17	Nhóm khác	Fuberidazole, phenmedipham, hexazinone, metribuzin, cyazofamid, imazalil, fenamidone, fenthion-sulfone, halofofenozide, benoxacor, dimethomorph, tridemorph, spirotramat, fenpropimorph, spiroxamine, methoxyfenozide, pyriproxyfen, tebufenozide, benzoximate, clethodim, cyprodinil, ethirimol, pyrimethanil, flufenacet, acibenzolar-S-methyl, hexythiazox, fenpyroximate, carbendazim, thiabendazole, mefenacet, etoxazole, bupirimate, nuarimol, fluridone, pyridaben, cycloxydim, isoprothiolane, buprofezin, formetanate, metaflumizone, pendimethalin, rotenone, indoxacarb, quinoxifen	44	-0,00 - 6,37	120	-2,90 - 6,37	37

Initial research on the application of the liquid chromatography - quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS) method for monitoring pesticide residues in fruits and vegetables

Nguyen Thi Ha My, Duong Duc Anh, Le Thi Huong, Dinh Dang Huy*

Food Safety and Toxicology Laboratory, Vinmec Hi-Tech Center, Ha Noi, Viet Nam

Abstract

Currently, there are thousands of plant protection chemicals being allowed for use in agriculture. Abuse or improper use of pesticides lead to increase residues in products, exceeding the maximum residue limit according to the regulations. Therefore, the need for developing methods, which can monitor, detect, and identify many pesticides simultaneously is necessary. The liquid chromatography quadrupole-time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS) method has advantage of being able to simultaneously quantify and screen many compounds at once, are being a trend in analytical techniques for analyzing and screening pesticide residues in foods. In this study, the LC-QTOF-MS method was used to quantify 186 pesticides in fruit and vegetable samples. The limit of detection (LOD) for all compounds is 3.0 µg/kg. The recovery is in the ranged of 74.4 -118%, relative standard deviation (RSD) <20%. At the same time, the method was initial researched for nontarget screening by reprocessing previously acquired data without re-injection of the samples. The list of pesticides can be screening, which are up to 500 chemicals, by comparison results with the available high resolution mass spectral library. The screening detection limit of the method (SDL) is 100 µg/kg. The method has been applied to quantify 186 pesticides, and nontarget screening analyse in 160 fruit and vegetable samples in the first 06 months of 2023.

Keywords: *Pesticides, vegetables, LC-QTOF-MS*