

findings in subjects with symptomatic medial knee osteoarthritis: a three-year prospective study. BMC Musculoskeletal Disorders, 11(1), 1–10.

5. **Trần Trung Dũng** (2012). Kết quả phẫu thuật thay khớp gối với kỹ thuật Gap Technique cải tiến. Bộ Y Tế- Trường Đại học Y Hà Nội, 80 N3BH.
6. **Bùi Hồng Thiên Khanh** (2012). Kết quả ban đầu thay khớp gối toàn phần tại bệnh viện Đại

học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Y học thực hành, 29–31.

7. **Đào Xuân Thành, Nguyễn Quốc Dũng** (2017). Kết quả phẫu thuật thay khớp gối điều trị thoái hóa nặng khớp gối. Tổng hội Y học Việt Nam, BV1-tháng 2 Số 1(451), 68–71.
8. **Phan Trung Quyết** (2018). Đánh giá kết quả điều trị thoái hóa khớp gối bằng phẫu thuật thay khớp gối toàn phần tại bệnh viện Bạch Mai.

## XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG THỜI 9 CHẤT TỒN DƯ BẢO VỆ THỰC VẬT TRONG MỘT SỐ LOẠI RAU QUẢ

Chữ Văn Mến<sup>1</sup>, Vương Thị Thu Hà<sup>1</sup>,  
Trần Thị Ngọc Mai<sup>1</sup>, Đào Đức Long<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã xây dựng quy trình định lượng đồng thời 9 chất tồn dư bảo vệ thực vật trong một số loại rau quả như Difenoconazole, Hexaconazole, Emamectin benzoate, Indoxacard, Acetamiprid, Carbaryl, Ethoprophos, Dimethoat, Carbosulfan bằng phương pháp khối phổ (Mass Spectrometry-MS), tiến hành phân tích trên máy LC - MS/MS. Điều kiện trên LC gồm cột sắc ký: tốc độ dòng 0.1 mL/phút, thể tích tiêm 10 µL. Điều kiện trên MS/MS gồm Ion mode ESI (+), điện thế mao quản 2.5 kV, source Temp 150°C, desolvation temperature 300°C, desolvation gas flow 0.25 mL/min, cone gas flow OFF

**Từ khóa:** Difenoconazole, Hexaconazole, Emamectin benzoate, Indoxacard, Acetamiprid, Carbaryl, Ethoprophos, Dimethoat, Carbosulfan LC/MS/MS rau quả

### SUMMARY

#### ESTABLISHING THE CONCURRENT QUANTIFICATION OF 9 PLANTS PROTECTION RESERVATIONS IN SOME VEGETABLE

In this study, we developed establishing the concurrent quantification of 9 plants protection reservations in some vegetable such as Difenoconazole, Hexaconazole, Emamectin benzoate, Indoxacard, Acetamiprid, Carbaryl, Ethoprophos, Dimethoat, Carbosulfan by Mass Spectrometry-MS. Conditions of mass spectrometry include chromatographic column; flow rate: 0.2 mL/min, injection volume: 10 µL. Conditions of MS/MS include Ion mode ESI (+), capillary electrophoresis 2.5 kV, source Temp 150°C desolvation temperature 300°C,

<sup>1</sup>Học viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Chữ Văn Mến

Email: chuvanmen@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 23.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 13.10.2022

Ngày duyệt bài: 21.10.2022

desolvation gas flow 0.25 mL/min, cone gas flow OFF

**Keywords:** Difenoconazole, Hexaconazole, Emamectin benzoate, Indoxacard, Acetamiprid, Carbaryl, Ethoprophos, Dimethoat, Carbosulfan, LC/MS/MS, vegetable

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Việt Nam là một trong những nước sử dụng nhiều HCBTV nhất thế giới. Điều này tiềm ẩn một nguy cơ lớn ảnh hưởng đến sức khỏe con người và môi trường xung quanh. Trung tâm Kiểm định thuốc BVTV phía Bắc đã đánh giá trong các năm 2000-2004, với rau cải, rau muống, cà chua, đậu đỗ có tới 20-73% số mẫu có dư lượng thuốc BVTV, 2,8-36% số mẫu có dư lượng vượt mức cho phép. Chính vì thế chúng tôi tiến hành đề tài này với mục tiêu ứng dụng kỹ thuật MS-MS độ nhạy cao định lượng một số nhóm thuốc bảo vệ thực vật trong một số loại rau quả.

### II. PHƯƠNG PHÁP VÀ NGUYÊN VẬT LIỆU

**2.1. Nguyên liệu:** Chuẩn hoạt chất BVTV có giấy chứng nhận hàm lượng hoặc tương đương.

Các dung dịch bao gồm Methanol, Acid Fomic, Acetonitrile đạt độ tinh khiết theo tiêu chuẩn LC-MS/MS.

**2.2. Thiết bị:** Hệ thống sắc ký khối phổ LC-MS/MS (Water – Mỹ), Cân phân tích MS 205 DU (Mettler Toledo – Thụy Sĩ), Cân kỹ thuật với độ chính xác 0.01g (Mettler Toledo – Thụy Sĩ), Máy ly tâm có thể đạt tốc độ 5000 vòng/phút, Máy vortex, MS3 digital (Đức)... Tất cả các thiết bị dụng cụ được hiệu chuẩn theo quy định ISO/IEC 17025 và GLP.

#### 2.3. Quy trình phân tích:

##### 2.3.1. Chuẩn bị mẫu thô

Đối với mẫu rau, củ, quả: Rửa sơ qua cho sạch đất cát, loại bỏ rễ, phần hư hại, dùng dao

cắt nhỏ, sau đó cho vào máy xay, xay nhuyễn và đồng nhất.

*Đối với chè khô:* Nghiền nhỏ, mịn và tiến hành đồng nhất toàn bộ mẫu.

**2.3.2. Chuẩn bị mẫu thử:** Cân  $5.00 \pm 0.05$  g mẫu đã được đồng hóa đối với các mẫu có hàm lượng nước cao và  $2.00 \pm 0.02$ g đối với mẫu rau ngót, chè khô, các mẫu có hàm lượng nước thấp, cho vào ống nghiệm nhựa 50 mL thêm 250  $\mu$ L dung dịch làm việc TPP 1 ppm, vortex 30 giây.

**2.3.3. Chuẩn bị mẫu trắng:** Mẫu trắng (đã được kiểm tra không có chất cần phân tích) được

chuẩn bị tương tự như mẫu thử.

**2.3.4. Chuẩn bị mẫu kiểm soát:** Mẫu kiểm soát được chuẩn bị tương tự như đối với mẫu thử nhưng bổ sung 500 $\mu$ L dung dịch chuẩn làm việc BVTV 1 ppm, vortex 30 giây.

**2.3.5. Mẫu thêm chuẩn để xây dựng đường chuẩn trên mẫu rau, củ, quả, chè:** Mẫu thêm chuẩn được chuẩn bị tương tự như mẫu trắng. Cho lần lượt các dung dịch chuẩn BVTV 1ppm và 10 ppm, dung dịch chuẩn làm việc TPP 1 ppm vào các ống nghiệm có chứa mẫu trắng theo bảng sau, sau đó trộn đều trên máy vortex trong khoảng 30 giây

5g/ 2g đối với chè, rau ngót	Std 1 10 ppb	Std 2 50 ppb	Std 3 100 ppb	Std 4 150 ppb	Std 5 200 ppb	Std 6 250 ppb	QC 100 ppb	Blank
Thể tích chuẩn 1 ppm (ul)	50	250						
Thể tích chuẩn 10 ppm (ul)			50	75	100	125	50	
IS TPP (ul)	250	250	250	250	250	250	250	250

**2.4. Tiền hành thí nghiệm.** Đối với mẫu rau, củ, quả, sữa, sản phẩm sữa có hàm lượng nước nhiều: thêm 20 ml dung dịch acetonitrile vào các ống nghiệm có chứa mẫu trắng, mẫu thử nghiệm, mẫu kiểm soát, đậy nắp, trộn đều trong 1 phút trên máy vortex.

Đối với mẫu chè khô, rau ngót, sữa, sản phẩm sữa và các mẫu có hàm lượng nước ít: thêm 10ml H<sub>2</sub>O, vortex trong 1 phút, sau đó thêm 10ml acetonitrile, trộn đều 1 phút trên máy vortex.

Cho toàn bộ hỗn hợp M1 vào các ống falcol chứa mẫu trên, đậy nắp kỹ, trộn đều trên máy vortex trong 30 giây.

Ly tâm mẫu tại 5000 vòng/ phút trong 5 phút.

Hút khoảng 4 ml dung dịch lớp trên cho vào ống falcol có chứa hỗn hợp M2, trộn đều trên máy vortex.

Ly tâm mẫu tại 5000 vòng/phút trong 5 phút.

Hút 1ml dịch chiết lọc qua màng lọc 0.22 $\mu$ m, đem chạy máy LC - MS/MS

**2.5. Tiền hành phân tích trên máy LC – MS/MS**

**Điều kiện trên LC.** Cột sắc ký: Tốc độ dòng: 0.1 mL/phút, Thể tích tiêm: 10 $\mu$ L.

**Chương trình gradient được chạy theo bảng sau:**

Thời gian (phút)	% pha động A ACN	% pha động B 0.1% AF/H <sub>2</sub> O	Curve
	10	90	
0.2	10	90	6
2.5	90	10	3
2.6	10	90	1

**Điều kiện trên MS/MS:** Ion mode ESI (+), Điện thế mao quản 2.5 kV, Source Temp 150<sup>o</sup>C, Desolvation temperature 300<sup>o</sup>C, Desolvation gas flow 0.25mL/min, Cone gas flow OFF

Các điều kiện phân mảnh MS/MSTên chất	Primary ion (m/z)	Daughter ion (m/z)	Dwell time (s)	Cone volt (V)	Cone energy (eV)
Carbaryl	202.1	117.0 127.0 145.0*	0.025	18	20 28 14
Acetamidrid	223.1	56.1 125.9*	0.025	26	15 16
Dimethoate	230.0	124.9 170.9 198.9*	0.025	18	18 14 10
Ethoprophos	243.1	130.9* 172.9 215.1	0.025	22	20 16 10

Hexaconazole	314.1	70.0* 159.0	0.025	30	20 21
Difenoconazole	406.2	110.9 251.0* 337.1	0.025	36	54 26 18
Indoxacard	528.1	149.9 203.0* 249.1	0.025	30	30 38 12
Emamectin benzoate	886.7	126.1 158.1*	0.025	48	48 36
Carbofuran	221.9	164.8* 123.0	0.025	19	14 20
TPP	327.1	152.8 251.0	0.025	45	25 26

**Thứ tự tiêm mẫu:** Tiêm chuẩn test máy, Tiêm các điểm đường chuẩn, Tiêm mẫu trắng, Tiêm mẫu kiểm soát, Tiêm mẫu thử

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sau khi tiến hành xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng đồng thời 9 chất tồn dư bảo vệ thực vật trong một số loại rau quả bằng phương pháp LC – MS/MS đạt được kết quả sau:

**Độ lặp lại của thiết bị.** Sự ổn định về mặt Thời gian lưu (RT) (RSD < 1%) cho thấy có thể dùng thời gian lưu (RT) làm yếu tố định danh. Sự lặp lại của Tín hiệu (Response) đo rất tốt (RSD < 5%) cho phép định lượng thỏa đáng chất cần phân tích.

**Độ tái lập.** Độ tái lập của phương pháp nằm trong ngưỡng 70-130%. Phòng thí nghiệm công bố độ tái lập phòng thí nghiệm %RSD<sub>R</sub> = <30%.

**Giới hạn phát hiện LOD, giới hạn định lượng LOQ.** Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Emamectin benzoate là 0.1294 µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Indoxacard là 1.0875 µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Difenoconazole là: 0.1266 µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Ethoprophos là: 0.5897 µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Dimethoate là: 0.8866 µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Acetamiprid là: 0.7157 µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Carbaryl là: 0.8507µg/Kg. Giới hạn phát hiện LOD trong mẫu Hexaconazole là: 0.3047 µg/Kg.

**Khoảng tuyến tính.** Xây dựng đường chuẩn bằng cách spike dung dịch chuẩn vào mẫu trắng tại 5 điểm với các nồng độ xác định: nồng độ (Conc): 10; 50; 100; 150; 200 ug/kg. Tiến hành phân tích và đo đường chuẩn, đảm bảo hệ số hồi quy tuyến tính  $0.99 \leq R^2 \leq 1$ .

**Khoảng xác định.** Dựa vào khoảng tuyến tính của đường chuẩn: 10- 100 ppb; Giới hạn

phát hiện LOD cho các nền mẫu là 3ppb; Giới hạn định lượng LOQ của mẫu: 10ppb

Phòng thí nghiệm công bố khoảng xác định của phương pháp trong khoảng [10ppb, 200ppb]. Khoảng xác định của phương pháp có thể mở rộng lớn hơn 200ppb tùy vào đối tượng hay mục đích phân tích.

**Hiệu suất thu hồi.** Đánh giá hiệu suất thu hồi tại điểm có nồng độ 100 ug/kg tại các nền khác nhau: Hiệu suất thu hồi của Emamectin benzoat là 84.12-122.16%; của Indoxacard trên các nền là 73.91-127.99%, của Difenoconazole trên các nền là 78.58-129.46%; của Ethoprophos trên các nền là 72.77-131.89%; của Dimethoat trên các nền là 62.4-133.64%; Acetamiprid trên các nền là 61.69-129.57%; của Carbaryl trên các nền là 67.04-133.36%; của Hexaconazole trên các nền là 67.38-135.9%;

**Độ không đảm bảo đo.** Tính độ không đảm bảo đo trong phòng kiểm nghiệm:

$$u_0 = \sqrt{u_1^2 + u_2^2}$$

Trong đó

- U<sub>0</sub> là độ không đảm bảo đo tổng hợp
- U<sub>1</sub> là độ lệch chuẩn của thu hồi
- U<sub>2</sub> là độ lệch chuẩn của độ tái lập

#### Nhận xét chung:

**Độ đúng.** Kết quả độ thu hồi nằm trong khoảng cho phép theo AOAC nên phòng thí nghiệm công nhận độ đúng của phương pháp.

**Giới hạn phát hiện LOD.** LOD của phòng thí nghiệm đưa ra là: 3 ug/kg

**Giới hạn định lượng LOQ.** LOQ của nền mẫu rau là 10 ug/kg

**Khoảng xác định.** Khoảng xác định của phương pháp [10, 200 ug/kg ], có thể xác định

nồng độ lớn hơn bằng cách pha loãng mẫu.

**Khoảng tuyến tính.** Trong khoảng nồng độ [10, 200 ug/kg ], hồi quy tuyến tính của phương pháp  $0,99 \leq R^2$

Từ cơ sở trên, chúng tôi áp dụng xây dựng định lượng tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong một số mẫu rau quả thu được kết quả là tỷ lệ mẫu phát hiện tồn dư thuốc bảo vệ thực vật trong mẫu rau quả khoảng 5-10%, số lượng thay đổi tùy từng loại, trên các loại rau ăn lá tỷ lệ cao hơn so với củ quả.

#### IV. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã xây dựng quy trình định lượng đồng thời 9 chất tồn dư bảo vệ thực vật trong một số loại rau quả như Difenoconazole, Hexaconazole, Emamectin benzoate, Indoxacard, Acetamiprid, Carbaryl, Ethoprophos, Dimethoat bằng phương pháp khối phổ (Mass Spectrometry-MS), tiến hành phân tích trên máy LC - MS/MS. Điều kiện trên LC gồm cột sắc ký: tốc độ dòng 0.1 mL/phút, thể tích tiêm 10  $\mu$ L. Điều kiện trên MS/MS gồm Ion mode ESI (+), điện thế mao quản 2.5 kV, source Temp 150°C, desolvation temperature 300°C, desolvation gas flow 0.25 mL/min, cone gas flow OFF.

Phương pháp của chúng tôi đã trình bày kết quả khả quan về độ nhạy, độ chính xác và độ thu hồi của 9 chất tồn dư bảo vệ thực vật trong một số loại rau quả. Phương pháp có độ đúng,

độ thu hồi nằm trong khoảng cho phép theo AOAC nên phòng thí nghiệm công nhận độ đúng của phương pháp.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y tế** (2018) Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học.
2. **Pfenning, A. P., Roybal, J. E., Rupp, H. S. et al** (2000). Simultaneous determination of residues of chloramphenicol, florfenicol, florfenicol amine, and thiamphenicol in shrimp tissue by gas chromatography with electron capture detection. Journal of AOAC international. 83(1): 26-30.
3. **Rezende, D. R., Filho, N. F., & Rocha, G. L.** (2012). Simultaneous determination of chloramphenicol and florfenicol in liquid milk, milk powder and bovine muscle by LC-MS/MS. Food Additives & Contaminants: Part A. 29(4): 559-570.
4. **Pokrant, E., Riquelme, R., Maddaleno, A. et al** (2018). Residue Depletion of Florfenicol and Florfenicol Amine in Broiler Chicken Claws and a Comparison of Their Concentrations in Edible Tissues Using LC-MS/MS. Molecules. 23(9): 2211.
5. **FDA, U.** (1995). Guideline for industry: text on validation of analytical procedures: ICH Q2A. Rockville, MD: Mar.
6. **Food and Drug Administration** (2018) Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. Số liệu của bài báo là một phần kết quả nghiên cứu của đề tài cấp Nhà nước "Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật MS-MS độ nhạy cao và Multiplex Realtime PCR thế hệ mới để phát hiện tác nhân hóa học và sinh học gây hại sức khỏe trong một số thực phẩm", mã số: ĐTĐL.CN-06/19

## ƯỚC LƯỢNG CHIỀU DÀI/CAO TỪ CHIỀU DÀI XƯƠNG CHÀY Ở TRẺ MẮC BỆNH POMPE TẠI BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG

Phạm Anh Thơ<sup>1</sup>, Lưu Thị Mỹ Thục<sup>2</sup>, Vũ Chí Dũng<sup>2</sup>, Nguyễn Thị Thúy Hồng<sup>1</sup>, Phạm Văn Phú<sup>1</sup>, Nguyễn Ngọc Khánh<sup>2</sup>, Đỗ Thị Thanh Mai<sup>2</sup>

#### TÓM TẮT

Đo chiều dài/cao ở trẻ mắc bệnh Pompe gặp nhiều khó khăn do trẻ không thể tự đứng vững hoặc có các bất thường cơ xương khớp như vẹo, quá uốn cột sống và co cứng. **Mục tiêu:** Xác định mối liên hệ giữa chiều dài/cao (CC) và chiều dài xương chày (XC) ở trẻ mắc bệnh Pompe. **Phương pháp:** 34 trẻ mắc

bệnh Pompe đang điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương được khám hệ vận động và đo chỉ số nhân trắc để xây dựng phương trình tương quan giữa chiều dài/cao và chiều dài xương chày. Sau 3 tháng, các đối tượng nghiên cứu được đánh giá lại để kiểm định tính chính xác của phương trình này. **Kết quả:** Phương trình ước lượng chiều dài/cao của trẻ mắc bệnh Pompe dựa trên chiều dài xương chày là  $CC = 3,29 \times XC + 34,65$  nếu không có bất thường cơ xương khớp và  $CC = 3,29 \times XC + 33,95$  nếu có bất thường cơ xương khớp ( $R^2 = 99,64\%$ ). Sau 3 tháng, sự khác biệt giữa chiều dài/cao thực và ước lượng từ phương trình trên không có ý nghĩa thống kê. **Kết luận:** Có thể ước lượng chiều dài/cao của trẻ mắc bệnh Pompe từ chiều dài xương chày.

**Từ khóa:** Bệnh Pompe, tình trạng dinh dưỡng, chiều dài/cao, chiều dài xương chày, trẻ em.

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Nhi Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thúy Hồng

Email: bshong@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 26.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 17.10.2022

Ngày duyệt bài: 25.10.2022