

# XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG GLYPHOSATE BẰNG PHƯƠNG PHÁP GC-MS/MS. ỨNG DỤNG ĐÁNH GIÁ TỒN DƯ GLYPHOSATE TRONG MÔI TRƯỜNG VÀ THỰC PHẨM

Lê Thanh Tâm<sup>1</sup>, Phú Minh Tấn<sup>1</sup>, Hồ Hoàng Khánh<sup>1</sup>, Lý Tuấn Kiệt<sup>1</sup>, Chu Văn Hải<sup>1</sup>  
Thái Văn Nam<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm TP.HCM- 2 Nguyễn Văn Thủ-Q.1-TP.HCM

<sup>2</sup>Trường Đại học Công nghệ TP. HCM - 475A Điện Biên Phủ, P.25, Q.Bình Thạnh, TP.HCM

## Abstract

The requirements of the research method should be rapid, simple, less toxic and effective to determination of glyphosate in soil, water and food. Samples were extracted using H<sub>2</sub>O, analyzed by GC-MS/MS. The method is assessed to be suitable for glyphosate allowing for limitation in the environment and food of other countries in the world and Vietnamese regulation TT50 / 2016 / TT-BYT with the quantitative limit of 1.0 ppb for the water sample, recovery efficiency 91.5% (RSD<sub>R</sub> = 9.43%), quantitative limit 0.5 ppm for soil sample, recovery efficiency 93.1% (RSD<sub>R</sub> = 11.26%), limit Quantities of 0.1 ppm grape grapes, recovery efficiency of 98.6% (RSD<sub>R</sub> = 11.376%). Test report of glyphosate in the environment and food higher standard of Europe, highest in dry leaves 13,790 times.

**Keywords:** GC-MS / MS, Glyphosate, environment, food, residue.

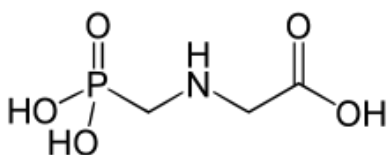
## Tóm Tắt

Yêu cầu của phương pháp nghiên cứu cần phải nhanh chóng, đơn giản, ít độc hại và hiệu quả để xác định Glyphosate trong đất, nước và thực phẩm. Mẫu sau khi đồng nhất được ly trích bằng H<sub>2</sub>O, phân tích bằng phương pháp GC-MS/MS. Phương pháp được đánh giá phù hợp với giới hạn cho phép Glyphosate trong môi trường và thực phẩm của các nước trên thế giới và quy chuẩn Việt Nam TT50/2016/TT-BYT với giới hạn định lượng 1,0 ppb cho nền mẫu nước, hiệu suất thu hồi 91,5% (RSD<sub>R</sub> = 9,43 %), giới hạn định lượng 0,5 ppm cho nền mẫu đất, hiệu suất thu hồi 93,1% (RSD<sub>R</sub> = 11,26 %), giới hạn định lượng 0,1 ppm cho nền mẫu nho, hiệu suất thu hồi 98,6% (RSD<sub>R</sub> = 11,376 %). Kết quả phân tích cho thấy hàm lượng Glyphosate vượt tiêu chuẩn của Châu Âu ở cả mẫu thực phẩm và mẫu môi trường, cao nhất ở mẫu thân lá cây khô, 13.790 lần.

**Từ khóa:** GC-MS/MS, Glyphosate, môi trường, thực phẩm, tồn dư.

## 1. MỞ ĐẦU

Trong thập niên vừa qua, việc sử dụng chất diệt cỏ Glyphosate ngày càng trở nên phổ biến và hiện nay là một trong những thuốc diệt cỏ được sử dụng nhiều nhất trên thế giới. Việc xác định glyphosate trong môi trường và nông nghiệp gây ra rất nhiều vấn đề khó khăn do nó là một hợp chất có phân tử lượng nhỏ, có độ phân cực rất cao và khả năng tan trong nước rất lớn và ít tan trong dung môi hữu cơ. Hơn nữa, nó có cấu trúc tương tự như những thành phần có trong cây như amino acid nên sẽ gây nhiễu trong quá trình phân tích [1, 2].



Hình 1: Cấu trúc của Glyphosate

Vấn đề đặt ra phải có những biện pháp thích hợp giúp các nhà quản lý kiểm soát tốt Glyphosate, trong

đó có việc xây dựng các phương pháp phân tích và đánh giá tồn dư Glyphosate trong môi trường và thực phẩm. Hiện nay, có rất nhiều phương pháp được nghiên cứu và ứng dụng để phân tích Glyphosate, có thể kể đến phương sắc ký lỏng hiệu năng cao HPLC, phương pháp sắc ký ion IC, phương pháp sắc ký khí GC-NPD [3]. Tuy vậy, các phương pháp này gặp một số trở ngại dương tính giả, giới hạn phát hiện cao không đáp ứng yêu cầu giới hạn cho phép các nước trên thế giới và Việt Nam.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nghiên cứu xác định Glyphosate bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ 3 tứ cực GC-MS/MS, thiết bị được đánh giá rất cao nhờ những ưu điểm về tính đặc hiệu, độ nhạy, độ chọn lọc.

Vì các tác hại rất nguy hiểm của Glyphosate gây ra cho người nên một số quốc gia đã thiết lập giới hạn cho phép của Glyphosate trong thực phẩm là rất thấp

**Bảng 1:** Giới hạn Glyphosate của các nước trên thế giới [3 - 6]

Stt	Quốc gia	MRL trong thực phẩm (mg/kg)	MRL trong nước (µg/L)
1	EU	0,1	0,1
2	Nhật	0,2	-
3	Mỹ	0,2	700

## 2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Thông số vận hành máy

**Bảng 2:** Các thông số cài đặt trên thiết bị GC-MS/MS

Chương trình	Thông số
<b>GC:</b>	
Cột	DB5MSUI30mx0.25x0.25µm
Khí mang	He
Injector	250°C
Split flow	50 ml/ph
Lưu lượng khí	1.0 ml/ph
Thẻ tích tiêm	2µl
<b>Chương trình nhiệt</b>	60°C/1.5 phút, tăng 10°C tới 120°C/1.0 phút, tăng 30°C tới 300°C/5.0 phút.
<b>MS</b>	
Transfer line:	290°C
Ion source:	250°C
Chế độ ion hóa	EI, MS/MS

### 2.2. Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Chuẩn gốc ( $C_0 = 100$  ppm): Cân khoảng 1 mg chuẩn Glyphosate, cho vào bình định mức 10ml, định mức đến vạch bằng nước cất.

Nội chuẩn Parathion-D10 40 ppm pha trong ACN của hãng Restek.

### 2.3. Chuẩn bị mẫu

Mẫu được chiết bằng nước, lấy 1 ml dịch thổi khô dưới dòng khí nitơ, nhiệt độ < 50°C. Để nguội ở nhiệt độ phòng. Thêm 0,1 ml heptafluoro-1-butanol, 0,2 ml Trifluoroacetic anhydride, vortex. Ủ ở 80 °C trong 45 phút. Để nguội ở nhiệt độ phòng, thổi dưới dòng khí nitơ, định mức lại bằng 0,2 ml nội chuẩn Parathion-d10. Cho vào lọ 1,5 ml, tiêm vào GC-MS/MS.

### 2.4. Thẩm định phương pháp

Phương pháp được đánh giá thẩm định theo qui định 2002/657/EC [3] đối với những chất độc hại có qui định mức giới hạn cho phép. Theo đó, cần khảo sát độ tuyến tính, độ thu hồi, độ lặp lại và độ tái lập, giới hạn phát hiện và định lượng của phương pháp. Độ thu hồi được đánh giá dựa vào việc so sánh nồng độ chất cần phân tích thu được khi phân tích so với nồng

độ lý thuyết thêm vào mẫu trắng (mẫu đã phân tích không phát hiện Glyphosate).

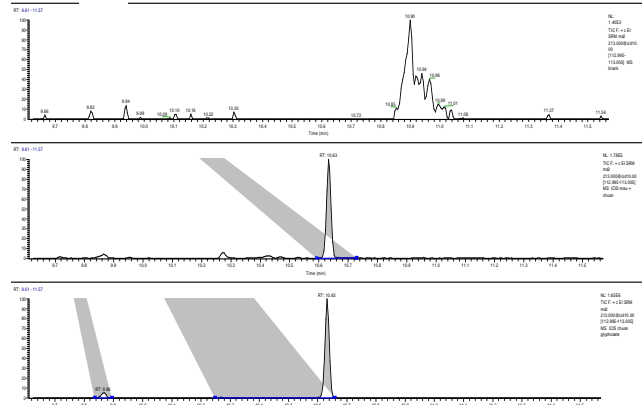
**Bảng 3:** Nồng độ thêm vào mẫu trắng để xác định độ lặp lại, độ tái lập

Nồng độ chuẩn trong mẫu	Lượng mẫu (ml, g)
Nước + 1,0 ppb	10
Đất + 0,5 ppm	5
Nho + 0,1 ppm	2

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS/MS

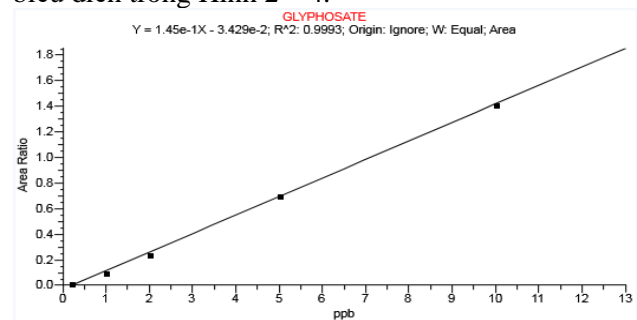
Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ GC-MS/MS có tính chọn lọc cao vì khi so sánh 3 sắc ký đồ (blank mẫu, mẫu thêm chuẩn 10ppb, dung dịch chuẩn 10ppb), tại thời gian lưu của glyphosate trong sắc ký đồ blank mẫu không xuất hiện nhiễu gây ra do tạp chất có trong mẫu. Phương pháp có độ nhạy cao, qui trình xử lý mẫu nhanh đáp ứng các yêu cầu khắt khe của các nước trên thế giới, kết quả chính xác và độ tin cậy cao đáp ứng cho việc xuất nhập khẩu hàng hóa và phục vụ cho việc quản lý của cơ quan.



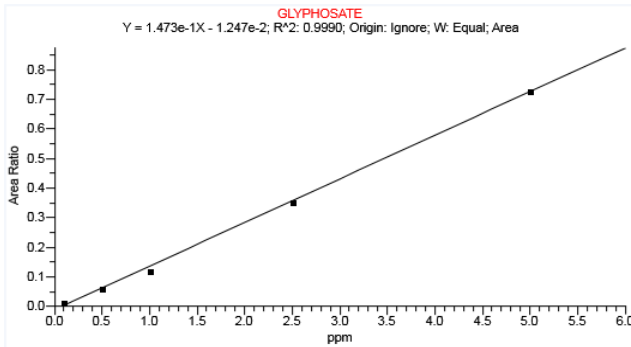
**Hình 2:** Sắc ký đồ blank mẫu, chuẩn 10ppb và mẫu thêm chuẩn 10ppb

### 3.2. Đường chuẩn

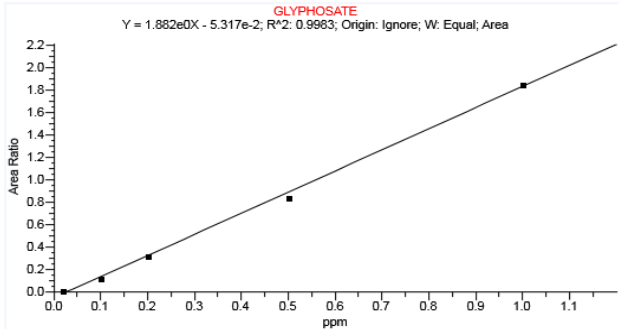
Đường chuẩn trên nền mẫu nước được xây dựng 5 điểm 0,2ppb, 1ppb, 2ppb, 5ppb và 10ppb; mẫu đất được xây dựng 5 điểm 0,2ppm, 1ppm, 2ppm, 5ppm và 10ppm; và mẫu trái nho được xây dựng 5 điểm 0,02ppm, 0,1ppm, 0,2ppm, 0,5ppm và 1,0ppm được biểu diễn trong Hình 2 – 4.



**Hình 3:** Đường chuẩn Glyphosate trên nền mẫu nước



Hình 4: Đường chuẩn Glyphosate trên nền mẫu đất



Hình 5: Đường chuẩn Glyphosate trên nền mẫu trái nho

Đường chuẩn trên nền mẫu đất, nước và trái nho đều có các thông số  $R^2 > 0,99$  đáp ứng được yêu cầu của AOAC Official Methods of Analysis (2016), Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements [3].

### 3.3. Độ thu hồi, độ lặp lại và độ tái lập, độ không đảm bảo đo

Kết quả thu được các thông số hiệu suất thu hồi, độ lặp lại, độ tái lập của phương pháp (Bảng 4) đều đạt theo qui định của AOAC Official Methods of Analysis (2016), Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements [3] chứng tỏ phương pháp phân tích được xây dựng là phù hợp.

Bảng 4: Các thông số phê duyệt tổng hợp

Các thông số phê duyệt	Mẫu Nước	Mẫu Đất	Mẫu Nho	Tiêu chuẩn AOAC
Hiệu suất thu hồi	91,5	93,1	98,6	60 - 115
Độ lặp lại ( $RSD_r$ %)	11,5	11,2	8,2	< 30
Độ tái lập ( $RSD_R$ %)	9,4	11,3	11,4	< 30
$U_{exp}$ (%)	25,4	26,4	22,9	-
Giới hạn định lượng	1,0 ppb	0,5 ppm	0,1 ppm	
Giới hạn phát hiện	0,3 ppb	0,2 ppm	0,03 ppm	

### 3.4. Ứng dụng phân tích Glyphosate trong thực phẩm và môi trường

Các mẫu được phân tích tại Trung tâm dịch vụ phân tích thí nghiệm TPHCM từ 6 tháng cuối năm 2017 được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5: Kết quả Glyphosate trong một số mẫu môi trường, thực phẩm

Stt	Tên mẫu	Kết quả (mg/l, mg/kg)
1	Nước	3,88 - 99,9
2	Đất	0,60 - 2400,0
3	Xơ dừa	19,69
4	Tâm bông	3,81
5	Lúa	1,04
6	Thân cây, lá khô	24,0 - 1379,0

Tất cả các mẫu phân tích đều có hàm lượng Glyphosate vượt tiêu chuẩn cho phép theo qui định của Châu Âu từ 10 - 13.790 lần; cao nhất ở mẫu thân cây, lá khô.

Nghiên cứu ở 12 trang trại trồng nho có sử dụng Glyphosate làm thuốc diệt cỏ ở huyện Tuy Phong, tỉnh Bình Thuận trên các mẫu đất, nước ngầm và trái nho. Kết quả được trình bày lần lượt ở các Bảng 6, 7, 8.

Bảng 6: Kết quả nồng độ Glyphosate trong đất tại các trang trại trồng nho ở Huyện Tuy Phong, Tỉnh Bình Thuận (so sánh với dư lượng thuốc BVTV cho phép trong đất)

Tên mẫu	Nồng độ Glyphosate (mg/kg)	Số lần vượt QCVN 15:2008/BTNMT
Đ1	0,5	5
Đ2	0,8	8
Đ3	0,0	0
Đ4	0,6	6
Đ5	0,8	8
Đ6	0,8	8
Đ7	0,6	6
Đ8	0,7	7
Đ9	0,6	6
Đ10	0,8	8
Đ11	0,0	0
Đ12	1,3	13

Việt Nam chưa có giới hạn qui định hàm lượng Glyphosate trong đất. Glyphosate thuộc nhóm thuốc diệt cỏ, theo Quy chuẩn kỹ thuật Quốc gia về dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong đất QCVN 15:2008/BTNMT, giới hạn tối đa cho phép của nhóm thuốc trừ cỏ < 0,1 mg/kg. Theo kết quả ở bảng 19 cho thấy, những hộ trồng nho sử dụng Glyphosate để trừ cỏ sẽ tồn dư trong đất và đều vượt từ 5 - 13 lần QCVN 15:2008/BTNMT.

Bảng 7: Nồng độ Glyphosate trong nước ngầm ở khu vực nghiên cứu

Tên mẫu	Nồng độ Glyphosate (µg/L)	So với giới hạn của EPA (MRL = 700 µg/L)	Số lần vượt giới hạn của EU (MRL = 0,1 µg/L)
N1	0,0	Đạt	0
N2	0,0	Đạt	0
N3	0,0	Đạt	0
N4	12,3	Đạt	123
N5	15,7	Đạt	157
N6	1,0	Đạt	10
N7	3,9	Đạt	39
N8	0,0	Đạt	0
N9	3,9	Đạt	39
N10	0,0	Đạt	0
N11	0,0	Đạt	0
N12	19,1	Đạt	191

Hiện nay ở Việt Nam chưa có giới hạn qui định hàm lượng Glyphosate trong nước. Theo Cơ quan bảo vệ môi trường Hoa Kỳ (EPA) qui định giới hạn tối đa của Glyphosate trong nước là 700µg/L. Kết quả ở bảng 7 cho thấy, những hộ trồng nho sử dụng Glyphosate để trừ cỏ sẽ tồn dư trong nước và đều an toàn theo ngưỡng kiểm soát của EPA. Tuy nhiên, theo tiêu chuẩn của khối liên minh Châu Âu (EU) là 0,1 µg/L thì nước của những hộ có tồn dư Glyphosate vượt ngưỡng từ 10 – 200 lần.

Bảng 8: Nồng độ Glyphosate trong trái nho ở khu vực nghiên cứu

Tên mẫu	Nồng độ Glyphosate (mg/kg)	TT 50/2016/BYT (MRL = 0,1 mg/kg)
TN1	0,00	Đạt
TN2	0,00	Đạt
TN3	0,00	Đạt
TN4	0,00	Đạt
TN5	0,09	Đạt
TN6	0,05	Đạt
TN7	0,00	Đạt
TN8	0,14	Không đạt
TN9	0,00	Đạt
TN10	0,14	Không đạt
TN11	0,00	Đạt
TN12	0,07	Đạt

Thông tư 50/2016/BYT qui định các loại thực phẩm được kiểm Glyphosate ở mức 0,1 mg/kg. Kết quả phân tích trong mẫu nho phát hiện có tồn dư Glyphosate trong trái nho ở hàm lượng rất nhỏ với 10 mẫu đạt chuẩn và 02 mẫu vượt 1,4 lần so giới hạn kiểm soát.

Do đó, Các cơ quan quản lý của Việt Nam cần sớm nghiên cứu và xây dựng qui chuẩn để kiểm soát Glyphosate trong môi trường và thực phẩm nhằm bảo vệ môi trường, nâng cao chất lượng sản phẩm nông sản, thực phẩm.

#### 4. KẾT LUẬN

Phương pháp xác định Glyphosate được thực hiện nhanh chóng, ít độc và hiệu quả, với giới hạn định lượng 1,0 ppb cho nền mẫu nước, hiệu suất thu hồi 91,5% (RSD<sub>R</sub> = 9,43 %), giới hạn định lượng 0,5 ppm cho nền mẫu đất, hiệu suất thu hồi 93,1% (RSD<sub>R</sub> = 11,26 %), giới hạn định lượng 0,1 ppm cho nền mẫu nho, hiệu suất thu hồi 98,6% (RSD<sub>R</sub> = 11,376 %) đáp ứng được tiêu chuẩn của Việt nam và Quốc tế. Khi ứng dụng phương pháp để xác định Glyphosate trong các nền mẫu khác như ngũ cốc, thực phẩm cho thấy dư lượng Glyphosate rất đáng báo động nếu so với tiêu chuẩn cho phép của Châu Âu. Đây là lời cảnh báo nghiêm túc, các cơ quan chức năng cần xem xét có những nghiên cứu qui mô tổng thể và cao hơn để tăng độ tin cậy của kết quả. Cơ quan chức năng cần chuẩn hóa và ban hành qui chuẩn về phân tích và giới hạn kiểm soát Glyphosate trong môi trường và thực phẩm. Cần tiến hành phân tích qui mô lớn hơn, đối tượng nghiên cứu nhiều hơn nhằm đánh giá rủi ro sức khỏe con người và môi trường.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] IARC Monographs Volume 112: *Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides*. 2016.
- [2] *EU scientists advise higher safety limits on glyphosate weedkiller*. EurActiv.com, 2015.
- [3] AOAC Official Method 2000.05, Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic Acide (AMPA) in Crop.
- [4] G. M. Williams, R. Kroes, and I. C. Munro (2000) "Safety Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans", *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 31, 117-165.50.
- [5] Glyphosate Issue Paper: Evaluation of Carcinogenic Potential EPA's Office of Pesticide Programs September 12, 2016.
- [6] The African Centre for Biosafety Glyphosate in SA: Risky pesticide at large and unregulated in our soil and water.

Tác giả: Lê Thanh Tâm

Trung tâm Dịch vụ Phân tích Thí Nghiệm TPHCM

Số 02 Nguyễn Văn Thủ, Đakao, quận I, TPHCM  
[tamlt@case.vn](mailto:tamlt@case.vn)

Điện thoại: 0909 52 54 88