

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9333:2012

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG THUỐC BẢO VỆ
THỰC VẬT BẰNG SẮC KÝ KHÍ KHỐI PHỔ VÀ SẮC KÝ
LỒNG KHỐI PHỔ HAI LẦN – PHƯƠNG PHÁP QUECHERS**

*Foods – Determination of pesticides residue by gas chromatography mass spectrometry
and liquid chromatography tandem mass spectrometry – QuEChERS method*

HA NỘI – 2012

Lời nói đầu

TCVN 9333:2012 được xây dựng trên cơ sở AOAC 2007.01 *Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate. Gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry*;

TCVN 9333:2012 do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia biên soạn, Bộ Y tế đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm – Xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật bằng sắc ký khí khối phổ và sắc ký lỏng khối phổ hai lần – Phương pháp QuEChERS

Foods – Determination of pesticides residue by gas chromatography mass spectrometry and liquid chromatography tandem mass spectrometry – QuEChERS method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp QuEChERS¹⁾ để xác định dư lượng các thuốc bảo vệ thực vật sau trong thực phẩm có nguồn gốc thực vật: atrazine, azoxystrobin, bifenthrin, carbaryl, chlorothalonil, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, λ -cyhalothrin, cyprodinil, *o,p'*-DDD, dichlorvos, endosulfan sulfat, ethion, imalazil, imidachlorprid, kresoxim-methyl, linuron, methamidophos, methomyl, permethrins, procymidone, pymetrozine, tebuconazole, thiabendazole, tolylfluanid và trifluralin.

Phương pháp này đã được đánh giá trong một nghiên cứu liên phòng trên rau diếp, nho và cam. Các thuốc bảo vệ thực vật là đại diện được chọn trong một số nền mẫu đại diện và phương pháp có thể áp dụng đối với các thuốc bảo vệ thực vật khác và nền mẫu khác tương tự.

Giới hạn định lượng của phương pháp nhỏ hơn 10 ng/g theo kết quả các thử nghiệm liên phòng được nêu trong Phụ lục A của tiêu chuẩn này.

2 Nguyên tắc

Phương pháp QuEChERS dựa trên chiết một lần bằng axetonitril đã được đệm hóa và tách khỏi nước có trong mẫu bằng phân bố lỏng lỏng nhờ muối magie sulfat ($MgSO_4$). Quá trình làm sạch bằng chiết phân tán pha rắn (d-SPE) được dùng để loại các axit hữu cơ, nước còn dư và các thành phần khác nhờ phối hợp chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2 (PSA) và $MgSO_4$; dịch chiết được tách bằng sắc ký lỏng (LC) hoặc sắc ký khí (GC) và phân tích bằng kỹ thuật khối phổ (MS).

¹⁾ Viết tắt của tiếng Anh: Quick - Easy - Cheap - Efficient - Rugged - Safe (nhANH - dễ - rẻ tiền - hiệu quả - ổn định - an toàn).

TCVN 9333:2012

CHÚ THÍCH: Vì nhiều nguyên nhân khác nhau, cả hai kỹ thuật GC/MS và LC/MS/MS đều có thể bị ảnh hưởng của nền mẫu khi phân tích thuốc bảo vệ thực vật. Để loại trừ các ảnh hưởng này, đường chuẩn được thực hiện trên nền mẫu (đường chuẩn trong dung môi có thể được dùng nếu chứng minh được không có ảnh hưởng của nền).

Sử dụng kỹ thuật bơm mẫu thể tích lớn (LVI) với thể tích 8 μ l để thu được giới hạn phát hiện nhỏ hơn 10 ng/g. Nếu không dùng LVI, dịch chiết có thể được cô đặc và chuyển sang dung môi toluen (1 ml/4 g) và sử dụng chế độ bơm mẫu không chia dòng với thể tích bơm 2 μ l.

3 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước được sử dụng là nước cất hai lần hoặc nước không chứa các tạp chất ảnh hưởng đến LC/MS/MS và GC/MS, trừ khi có quy định khác.

3.1 Magie sulfat ($MgSO_4$) khan, dạng bột, độ tinh khiết lớn hơn 98 %, được nung ở 500 $^{\circ}C$ trong thời gian lớn hơn 5 h để loại phthalat và nước.

3.2 Axetonitril (CH_3CN), không chứa các chất gây nhiễu.

3.3 Axit axetic (CH_3COOH) băng, không chứa các chất gây nhiễu.

3.4 Dung dịch axit axetic 1 % thể tích trong axetonitril (ví dụ: dung dịch gồm 10 ml CH_3COOH và 990 ml axetonitril).

3.5 Dung dịch axit axetic 0,1 % thể tích trong axetonitril (ví dụ: dung dịch gồm 1 ml CH_3COOH và 999 ml axetonitril).

3.6 Natri axetat (CH_3COONa) khan, dạng bột (có thể dùng $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ nhưng với mỗi gam mẫu cần 0,17 g $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ thay vì 0,1 g CH_3COONa khan).

3.7 Chấp hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2 (PSA), có cỡ hạt 40 μm ²⁾.

3.8 Chấp hấp phụ C18 (tùy chọn), có cỡ hạt 40 μm , dùng cho mẫu chứa nhiều hơn 1 % chất béo.

3.9 Chấp hấp phụ than chì (GCB) (tùy chọn), có cỡ hạt 120/400 mesh, được dùng nếu mẫu không chứa các thuốc bảo vệ thực vật cấu trúc phẳng.

3.10 Toluene (tùy chọn), không chứa các chất gây nhiễu; chỉ cần thiết nếu không sử dụng LVI trong GC/MS.

3.11 Metanol, không chứa các tạp chất ảnh hưởng đến LC/MS/MS.

²⁾ Có thể sử dụng sản phẩm Varian Part No. 12213024 hoặc tương đương. Thông tin này tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn và tiêu chuẩn này không ấn định phải sử dụng sản phẩm nêu trên.

3.12 Dung dịch axit formic, 6,7 mM

Cân chính xác 0,308 g axit formic, hòa tan trong nước đến 1 lít.

3.13 Hỗn hợp magie sulfat ($MgSO_4$) và natri axetat (CH_3COONa)

Lấy 6,0 g \pm 0,3 g $MgSO_4$ khan (3.1) và 1,5 g \pm 0,1 g CH_3COONa khan (3.6) (hoặc 2,5 g \pm 0,2 g $CH_3COONa \cdot 3H_2O$) vào ống chứa phù hợp.

Ống chứa cần được đậy kín trong quá trình bảo quản và có thể tái sử dụng mà không cần phải rửa sạch giữa các lần dùng khác nhau.

3.14 Hỗn hợp chiết phân tán pha rắn (d-SPE)

Lấy 0,05 g \pm 0,01 g chất hấp thụ PSA (3.7) và 0,15 g \pm 0,03 g $MgSO_4$ khan (3.1) vào ống ly tâm 2 ml có nắp. Nếu GC/MS không có bộ LVI thì sử dụng ống ly tâm từ 10 ml đến 15 ml có chứa 0,40 g \pm 0,08 g chất hấp thụ PSA và 1,20 g \pm 0,24 g $MgSO_4$ khan. Có thể sử dụng các ống chuẩn bị sẵn.

Đối với mẫu có hàm lượng chất béo lớn hơn 1 %, thì cần thêm 0,05 g \pm 0,01 g chất hấp phụ C18 (3.8) cho mỗi mililit dịch chiết. Nếu mẫu thử không chứa thuốc bảo vệ thực vật cấu trúc phẳng (ví dụ: thiabendazole, terbufos, quintozone và hexachlorobenzen) thì thêm 0,05 g \pm 0,01 g GCB (3.9) cho mỗi mililit dịch chiết.

3.15 Các chất chuẩn thuốc bảo vệ thực vật, có độ tinh khiết lớn hơn 97 %, bao gồm atrazine, azoxystrobin, bifenthrin, carbaryl, chlorothalonil, chlorpyrifos, chlorpyrifos-methyl, λ -cyhalothrin, cyprodinil, *o,p'*-DDD, dichlorvos, endosulfan sulfat, ethion, imalazil, imidachlorpid, kresoxim-methyl, linuron, methamidophos, methomyl, permethrins, procymidone, pymetrozine, tebuconazole, thiabendazole, tolyfluanid, trifluralin và triphenyl phosphat (TPP).

3.16 Các dung dịch chuẩn thuốc bảo vệ thực vật

3.16.1 Các dung dịch chuẩn gốc, 1000 μ g/ml

Cân chính xác khoảng 0,1 g từng thuốc bảo vệ thực vật (3.15) bằng cân phân tích (4.4), hòa tan và định mức đến 100 ml bằng dung dịch axit axetic 0,1 % trong axetonitril (3.5). Nồng độ chính xác của dung dịch được hiệu chuẩn theo khối lượng cân thực tế và theo độ tinh khiết.

CHÚ THÍCH: Có thể cân 0,01 g trên cân phân tích có độ chính xác 0,01 mg để pha trong bình 10 ml.

Khi bảo quản các dung dịch này trong tủ lạnh đông sâu ở nhiệt độ bằng hoặc nhỏ hơn âm 20 °C thì có thể bền được trong 1 năm.

3.16.2 Dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp, 40 μ g/ml

TCVN 9333:2012

Lấy các thể tích phù hợp của các dung dịch chuẩn gốc để pha được dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp có nồng độ 40 µg/ml trong dung dịch axit axetic 0,1 % trong axetonitril (3.5).

Khi bảo quản các dung dịch này trong tủ lạnh đông sâu ở nhiệt độ bằng hoặc nhỏ hơn âm 20 °C thì có thể bền được trong 1 năm.

3.16.3 Dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp, 4 µg/ml (chỉ chuẩn bị khi GC/MS không có bộ LVI)

Lấy 100 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

Khi bảo quản các dung dịch này trong tủ lạnh đông sâu ở nhiệt độ bằng hoặc nhỏ hơn âm 20 °C thì có thể bền được trong 1 năm.

3.16.4 Dung dịch nội chuẩn hỗn hợp, 40 µg/ml

Chuẩn bị dung dịch hỗn hợp d₁₀-parathion và d₆-α-HCH trong axetonitril có nồng độ 40 µg/ml.

Khi bảo quản các dung dịch này trong tủ lạnh đông sâu ở nhiệt độ bằng hoặc nhỏ hơn âm 20 °C thì có thể bền được trong 1 năm.

3.16.5 Dung dịch triphenyl phosphat (TPP), 2 µg/ml

Pha loãng dung dịch gốc TPP 1000 µg/ml trong dung dịch axit axetic 0,1 % trong axetonitril (3.5) để thu được dung dịch chất đồng hành TPP có nồng độ 2 µg/ml.

Khi bảo quản các dung dịch này trong tủ lạnh đông sâu ở nhiệt độ bằng hoặc nhỏ hơn âm 20 °C thì có thể bền được trong 1 năm.

3.16.6 Dung dịch chuẩn làm việc (trường hợp GC/MS có bộ LVI)

3.16.6.1 Dung dịch chuẩn làm việc 1, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 20 µg/ml trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 5 ml dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 1 ml dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 10 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.6.2 Dung dịch chuẩn làm việc 2, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 5 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 1,25 ml dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 1 ml dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 10 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.6.3 Dung dịch chuẩn làm việc 3, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 2 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 500 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 1 ml dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 10 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.6.4 Dung dịch chuẩn làm việc 4, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 1 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 250 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 1 ml dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 10 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.6.5 Dung dịch chuẩn làm việc 5, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 0,2 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 50 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 1 ml dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 10 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.6.6 Dung dịch chuẩn làm việc 6, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 0,1 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 25 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 1 ml dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 10 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7 Dung dịch chuẩn làm việc (trường hợp GC/MS không có bộ LVI).

3.16.7.1 Dung dịch chuẩn làm việc 1, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 20 µg/ml trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 500 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 100 µl dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7.2 Dung dịch chuẩn làm việc 2, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 5 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 125 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 100 µl dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7.3 Dung dịch chuẩn làm việc 3, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 2 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 50 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2), 100 µl dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7.4 Dung dịch chuẩn làm việc 4, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 1 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

TCVN 9333:2012

Cho 250 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 4 µg/ml (3.16.3), 100 µl dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7.5 Dung dịch chuẩn làm việc 5, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 0,2 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 50 µl dung dịch thêm chuẩn trung gian hỗn hợp 4 µg/ml (3.16.3), 100 µl dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7.6 Dung dịch chuẩn làm việc 6, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 0,1 µg/ml mỗi chất trong CH₃CN và CH₃COOH 1 %

Cho 25 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 4 µg/ml (3.16.3), 100 µl dung dịch CH₃COOH 1 % trong CH₃CN (3.4) vào bình định mức 1 ml và thêm CH₃CN đến vạch.

3.16.7.7 Dung dịch chuẩn làm việc 7, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 20 µg/ml trong toluen

Cho 5 ml dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 10 ml và thêm toluen đến vạch.

3.16.7.8 Dung dịch chuẩn làm việc 8, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 5 µg/ml trong toluen

Cho 1,25 ml dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 10 ml và thêm toluen đến vạch.

3.16.7.9 Dung dịch chuẩn làm việc 9, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 2 µg/ml trong toluen

Cho 500 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 10 ml và thêm toluen đến vạch.

3.16.7.10 Dung dịch chuẩn làm việc 10, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 1 µg/ml trong toluen

Cho 250 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 10 ml và thêm toluen đến vạch.

3.16.7.11 Dung dịch chuẩn làm việc 11, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 0,2 µg/ml trong toluen

Cho 50 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 10 ml và thêm toluen đến vạch.

3.16.7.12 Dung dịch chuẩn làm việc 12, nồng độ mỗi thuốc bảo vệ thực vật 0,1 µg/ml trong toluen

Cho 25 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) vào bình định mức 10 ml và thêm toluen đến vạch.

4 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và các thiết bị, dụng cụ cụ thể sau:

4.1 Máy sắc ký khí khối phổ (GC/MS). Có thể sử dụng các thiết bị khối phổ loại bẫy ion, tứ cực, thời gian bay (TOF) hoặc các loại khác với chế độ ion hóa va chạm điện tử, bộ bơm mẫu tự động và hệ thống thu nhận dữ liệu bằng máy tính. Sử dụng chế độ bơm mẫu thể tích lớn (LVI) hoặc các chế độ bơm mẫu tương đương có thể bơm đến 8 μ l (nếu có) hoặc chế độ bơm mẫu không chia dòng.

4.2 Máy sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC/MS/MS). Có thể sử dụng hệ thống khối phổ ba tứ cực, bẫy ion hoặc các thiết bị LC/MS/MS khác nếu có nguồn ion hóa phun điện tử (ESI), chế độ ion dương, bộ bơm mẫu tự động.

4.3 Máy ly tâm, có khả năng dùng ống ly tâm hay lọ thể tích 50 ml và ống ly tâm chia độ từ 10 ml đến 15 ml hoặc ống nhỏ 2 ml sử dụng trong quá trình làm sạch bằng hỗn hợp d-SPE. Xác định tốc độ quay để thu được lực ly tâm cần thiết mà không vượt quá tốc độ tối đa của máy ly tâm, ống và rotor.

4.4 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

4.5 Cân, có thể cân chính xác đến 0,01 g.

4.6 Tủ lạnh đông, có thể hoạt động liên tục ở nhiệt độ thấp hơn âm 20 °C.

4.7 Lò nung, có thể hoạt động ở 500 °C.

4.8 Máy cắt, tốt nhất là loại cắt dọc.

4.9 Máy đồng hóa.

4.10 Bộ làm bay hơi dung môi (tùy chọn), dùng bay hơi axetonitril, khi GC/MS không có bộ LVI.

4.11 Ống ly tâm, dung tích 50 ml, bằng nhựa etylen propylen flo hóa (FEP).

4.12 Ống ly tâm, dung tích từ 10 ml đến 15 ml (tùy chọn), dùng cho quá trình bay hơi và/hoặc làm sạch bằng hỗn hợp d-SPE.

4.13 Ống ly tâm, dung tích 2 ml (tùy chọn), dùng cho hỗn hợp d-SPE (sử dụng ống với nắp có vòng đệm để tránh rò rỉ).

4.14 Bơm tiêm hoặc pipet, dùng để lấy chính xác 2 μ l hoặc 8 μ l mẫu đưa vào GC/MS và lấy các thể tích thích hợp mẫu thêm chuẩn, nội chuẩn và các dung dịch chuẩn làm việc (từ 12,5 μ l đến 300 μ l).

4.15 Pipet tự động hoặc pipet định mức, có khả năng lấy chính xác từ 0,5 ml đến 8 ml dung môi.

5 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này, nên lấy mẫu theo TCVN 5139:2008 (CAC/GL 33-1999) *Phương pháp khuyến cáo lấy mẫu để xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật phù hợp với các giới hạn dư lượng tối đa (MRL)*.

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện. Mẫu không được hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình bảo quản và vận chuyển.

6 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu cần được làm nhỏ bằng máy cắt (4.8) và đồng nhất kỹ bằng máy đồng hóa (4.9). Lượng mẫu mang đi đồng nhất nên lấy tối thiểu 200 g để đảm bảo tính đại diện.

Để thu được mẫu đồng nhất, cần chú ý điều kiện bảo quản, thời gian nghiền và cỡ mẫu phù hợp với quá trình nghiền. Việc bảo quản mẫu đông lạnh làm giảm sự phân hủy và bay hơi đối với một số thuốc bảo vệ thực vật. Trong trường hợp này, cắt nhỏ mẫu thành các phần từ 2 cm³ đến 5 cm³ bằng dao và bảo quản trong tủ lạnh đông trước khi thực hiện quy trình. Các dụng cụ xay đông lạnh, nitor lồng, hoặc đá khô có thể được dùng (nhưng phải đảm bảo đá khô thăng hoa trước khi cân mẫu và đảm bảo sự ngưng tụ nước là tối thiểu, đặc biệt là trong môi trường ẩm).

7 Cách tiến hành

Chú thích an toàn: Lấy dung môi trong tủ hút và mang các phương tiện bảo hộ phù hợp như kính, áo choàng và găng tay. Khi ly tâm, không vượt quá giới hạn của ống hoặc rotor, nếu cần phải cân bằng các ống về khối lượng tương đương để thu được sự cân bằng tốt nhất khi ly tâm.

7.1 Chiết mẫu

Cân 15,0 g ± 0,1 g mẫu thử đã chuẩn bị (xem Điều 6) vào ống ly tâm FEP (4.11). Thêm vào ống lần lượt 15 ml dung dịch axit axetic 1 % trong CH₃CN (3.4) và 75 µl dung dịch nội chuẩn (3.16.4) (nồng độ nội chuẩn thu được tương đương 200 ng/g). Thêm toàn bộ hỗn hợp muối MgSO₄ và CH₃COONa (3.13) vào ống ly tâm (dịch chiết sẽ có nhiệt độ trong khoảng từ 40 °C đến 45 °C) và đậy kín ống. Lắc ống mạnh bằng tay trong 1 min (lắc cùng lúc từ 3 ống đến 5 ống mỗi tay), đảm bảo dung môi tương tác tốt với mẫu và các tinh thể muối bị vỡ ra khi lắc (có thể sử dụng máy lắc khi dùng các lọ FEP với lượng mẫu lớn). Ly tâm với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min.

CHÚ THÍCH: Lực ly tâm càng lớn, càng thu được dịch chiết sạch hơn.

7.2 Xử lý dịch chiết

7.2.1 Phương án tùy chọn A (trường hợp GC/MS sử dụng bộ LVI)

Lấy 1 ml dịch chiết trong CH₃CN (lớp trên) thu được từ 7.1 cho vào ống ly tâm dung tích 2 ml (4.13) chứa hỗn hợp d-SPE (3.14). Đậy kín nắp và lắc bằng tay (hoặc lắc bằng máy Vortex) trong 30 s. Ly tâm ống d-SPE với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min.

Lấy 500 µl dịch chiết cuối từ ống d-SPE vào lọ (vial) dùng cho LVI/GC/MS. Thêm 50 µl dung dịch TPP (3.16.5) và 25 µl CH₃CN (3.2) vào lọ. Đậy nắp lọ, lắc kỹ sau đó mở nắp và chuyển 150 µl dịch lỏng vào các lọ mẫu khác dùng cho LC/MS/MS. Thêm 450 µl dung dịch axit formic 6,7 mM (3.12) để thu được nồng độ axit và dung môi hữu cơ như tỷ lệ ban đầu của pha động. Đậy nắp hai lọ mẫu trên, thực hiện phân tích trên LVI/GC/MS và LC/MS/MS.

CHÚ THÍCH: Đảm bảo kim bơm mẫu được cài đặt đủ thấp để lấy được lượng mẫu nhỏ trong lọ đựng.

7.2.2 Phương án tùy chọn B (trường hợp GC/MS không sử dụng bộ LVI)

Lấy 8 ml dịch chiết (lớp trên) thu được từ 7.1 cho vào ống ly tâm dung tích từ 10 ml đến 15 ml (4.12) chứa hỗn hợp d-SPE (3.14). Đậy kín nắp và lắc bằng tay (hoặc lắc bằng máy Vortex) trong 30 s. Ly tâm ống d-SPE với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min.

Lấy 250 µl dịch chiết trong CH₃CN từ ống d-SPE vào lọ dùng cho LC/MS/MS. Thêm 25 µl dung dịch TPP (3.16.5) và 12,5 µl CH₃CN (3.2) vào lọ. Thêm 860 µl dung dịch axit formic 6,7 mM (3.12) để thu được nồng độ axit và dung môi hữu cơ như tỷ lệ ban đầu của pha động. Đậy nắp lọ và thực hiện phân tích trên LC/MS/MS.

Lấy 4 ml dịch chiết từ ống d-SPE vào ống ly tâm dung tích từ 10 ml đến 15 ml (4.12). Thêm 400 µl dung dịch TPP (3.16.5) và 1 ml toluen (3.10) vào ống. Cho bay hơi dịch chiết trong thiết bị thổi khô dùng khí N₂ ở 50 °C cho đến thể tích còn lại khoảng 0,3 ml đến 0,5 ml. Thêm toluen (3.10) đến 1 ml, thêm MgSO₄ khan (3.1) đến vạch 0,2 ml và xoay ống để rửa đến vạch 6 ml. Ly tâm với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min và chuyển 0,6 ml dịch chiết cuối vào lọ thích hợp, đậy nắp và thực hiện phân tích GC/MS.

7.3 Mẫu trắng thuốc thử

Tiến hành như mẫu thử nhưng thay mẫu bằng 13 ml nước. Thực hiện tối thiểu một mẫu trắng thuốc thử trong một lô mẫu.

7.4 Mẫu kiểm soát

Cân 15 g mẫu trắng (mẫu đã được xác định không chứa các thuốc bảo vệ thực vật), thêm 75 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp 40 µg/ml (3.16.2) để thu được nồng độ mẫu kiểm soát là 200 ng/g, sau đó tiến hành như mẫu thử. Thực hiện tối thiểu một mẫu kiểm soát trong một lô mẫu.

TCVN 9333:2012

7.5 Dụng cụ chuẩn

7.5.1 Chiết mẫu trắng

Cân 2 mẫu trắng (trường hợp GC/MS sử dụng bộ LVI) hoặc 6 mẫu trắng (trường hợp GC/MS không sử dụng bộ LVI), mỗi mẫu 15 g, cho vào các ống ly tâm (4.11). Thêm 15 ml dung dịch axit axetic 1 % trong CH₃CN (3.4) vào ống. Thêm toàn bộ hỗn hợp muối MgSO₄ và CH₃COONa (3.13) vào ống ly tâm và đậy kín ống. Lắc ống mạnh bằng tay trong 1 min. Ly tâm với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min. Gộp các dịch chiết trong CH₃CN của các mẫu trắng. Lấy các thể tích 1 ml dịch chiết trong CH₃CN cho vào 7 ống chiết d-SPE (3.14). Đậy kín nắp và lắc bằng tay (hoặc lắc bằng máy Vortex) trong 30 s. Ly tâm ống d-SPE với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min.

7.5.2 Xử lý dịch chiết mẫu trắng

7.5.2.1 Phương án tùy chọn A (trường hợp GC/MS sử dụng bộ LVI)

Lấy 500 µl dịch chiết trong CH₃CN từ ống d-SPE thu được từ 7.5.1, cho vào các lọ dùng cho LVI/GC/MS. Thêm 50 µl dung dịch TPP (3.16.5) vào tất cả 7 lọ; 25 µl CH₃CN (3.2) vào mẫu chuẩn "0" và 25 µl các dung dịch chuẩn làm việc tương ứng (từ 3.16.6.1 đến 3.16.6.6) vào 6 lọ tương ứng để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ thuốc bảo vệ thực vật tương ứng trên mẫu là 1000, 250, 100, 50, 10 và 5 ng/g. Đậy nắp lọ, lắc kỹ sau đó mở nắp và chuyển 150 µl vào các lọ khác dùng cho LC/MS/MS. Thêm 450 µl dung dịch axit formic 6,7 mM (3.12) để thu được nồng độ axit và dung môi hữu cơ như tỷ lệ ban đầu của pha động. Đậy nắp các lọ trên, thực hiện phân tích trên LVI/GC/MS và LC/MS/MS.

7.5.2.2 Phương án tùy chọn B (trường hợp GC/MS không sử dụng bộ LVI)

Lấy 250 µl dịch chiết trong CH₃CN từ ống d-SPE thu được từ 7.5.1, cho vào các lọ dùng cho LC/MS/MS. Thêm 25 µl dung dịch TPP (3.16.5) vào các lọ, 12,5 µl CH₃CN (3.2) vào mẫu chuẩn "0" và 12,5 µl các dung dịch chuẩn làm việc tương ứng (3.16.7.1 đến 3.16.7.6) vào các lọ thích hợp. Thêm 860 µl dung dịch axit formic 6,7 mM (3.12) để thu được nồng độ axit và dung môi hữu cơ như tỷ lệ ban đầu của pha động. Đậy nắp lọ và thực hiện phân tích trên LC/MS/MS.

Lấy 4 ml dịch chiết từ ống d-SPE vào ống ly tâm dung tích từ 10 ml đến 15 ml (4.12). Thêm 400 µl dung dịch TPP (3.16.5) và 1 ml toluen (3.10) vào ống. Cho bay hơi dịch chiết trong thiết bị thổi khô dùng khí N₂ ở 50 °C cho đến thể tích còn lại khoảng 0,3 ml đến 0,5 ml. Thêm 200 µl mỗi dung dịch chuẩn làm việc (từ 3.16.7.7 đến 3.16.7.12) vào các lọ thích hợp. Thêm toluen (3.10) đến 1 ml, thêm MgSO₄ khan (3.1) đến vạch 0,2 ml và xoay ống để rửa đến vạch 6 ml. Ly tâm với gia tốc lớn hơn 1500 g trong 1 min và chuyển khoảng 0,6 ml dịch chiết cuối vào lọ thích hợp, đậy nắp và thực hiện phân tích GC/MS.

7.5.3 Dụng đường chuẩn

Đường chuẩn được xây dựng dựa trên diện tích pic của chất phân tích và nồng độ của chất. Giá trị hệ số chặn nên gần giá trị 0 và hệ số tương quan hồi quy (r^2) phải lớn hơn 0,995. Diện tích pic sắc ký (hoặc tỷ lệ diện tích pic sắc ký và diện tích pic nội chuẩn, nếu có sử dụng chất chuẩn nội) là giá trị tín hiệu S. Có thể sử dụng chiều cao pic sắc ký nếu diện tích pic có vấn đề. Nồng độ tính trên mẫu (nanogram trên gam) của chất phân tích trong các chuẩn dùng xây dựng đường chuẩn trên nền mẫu có thể xác định bằng cách nhân thể tích cho vào dịch chiết (microlit) với nồng độ của các dung dịch chuẩn làm việc (microgam trên mililit) và chia cho khối lượng mẫu trong dịch chiết cuối (1 g/ml đối với dịch chiết trong CH_3CN và 4 g/ml đối với dịch chiết trong toluen).

7.6 Điều kiện phân tích bằng LVI/GC/MS và LC/MS/MS

7.6.1 Yêu cầu chung

Thực hiện bảo dưỡng LVI/GC, LC và MS để đảm bảo thiết bị hoạt động tốt. Bơm chuẩn trên 10 ng/g nền mẫu trong điều kiện được sử dụng. Trong GC, đảm bảo pic sắc ký có dạng phân bố Gauss, độ rộng pic tại nửa pic nhỏ hơn 5 s và thu được tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu S/N lớn hơn 10 cho ion định lượng được chọn tại thời gian lưu t_R phù hợp. Có một vài chất phân tích có vấn đề ở nồng độ 10 ng/g, nhưng LC/MS/MS thường cho kết quả tốt hơn đối với những chất khó phân tích bằng GC. Cần bảo dưỡng thiết bị đúng để đảm bảo loại trừ các vấn đề đối với những chất khó phân tích bằng GC và không phân tích được bằng LC/MS/MS. Sử dụng ion thay thế hoặc bổ sung thêm ion nếu S/N không đáp ứng hoặc có ảnh hưởng nền xảy ra. Trong trường hợp này, cần bơm mẫu chuẩn "0" để xác định xem có tạp chất ở tại vị trí t_R của chất phân tích hay không.

Thực hiện đánh giá tính phù hợp tương tự đối với LC/MS/MS cho các chất phân tích. Chọn thể tích bơm mẫu phù hợp để thu được tối thiểu độ nhạy S/N lớn hơn 10 cho chuẩn có nồng độ 10 ng/g và pic dạng phân bố Gauss, với độ rộng nhỏ hơn 30 s ở nửa chiều cao pic.

Khi tính tương thích của hệ thống được đáp ứng, thực hiện bơm mẫu theo thứ tự đề nghị như sau: mẫu trắng; dung dịch chuẩn 250 ng/g; dung dịch chuẩn 10 ng/g; các mẫu thử từ 1 đến 4; dung dịch chuẩn 5 ng/g; dung dịch chuẩn 50 ng/g; các mẫu thử từ 5 đến 7; mẫu kiểm soát (7.4); dung dịch chuẩn 100 ng/g; dung dịch chuẩn 1000 ng/g và mẫu trắng thuốc thử (7.3). Không được có hiện tượng thừa mẫu trong mẫu trắng thuốc thử. Bảo quản dịch chiết ở nhiệt độ thấp hơn âm 20 °C nếu không phân tích ngay sau khi chiết, nhưng khi bảo quản lâu sẽ có hiện tượng phân hủy một số thuốc bảo vệ thực vật.

Tiêu chuẩn này đưa ra hai điều kiện phân tích bằng LC/MS/MS và GC/MS. Phòng thử nghiệm có thể thay đổi các điều kiện phù hợp nhưng phải đáp ứng các yêu cầu nêu trên.

7.6.2 Ví dụ về điều kiện phân tích bằng LC/MS/MS

a) Điều kiện đối với HPLC

- Thiết bị HPLC: LC-20AD XR của Shimadzu ³⁾, có thể đạt áp suất tối đa 600 bar;
- Cột phân tích: loại C18 (dài 15 cm, đường kính 2,1 mm, cỡ hạt nhồi 3,5 µm) và tiền cột C18 (dài 2 cm, đường kính 4,6 mm, cỡ hạt nhồi 5 µm);
- Nhiệt độ cột: nhiệt độ môi trường;
- Thể tích bơm mẫu: 10 µl.
- Pha động: gradient hai kênh như Bảng 1.
 - kênh A: dung dịch axit formic 6,7 mM (3.12).
 - kênh B: metanol (3.11).

Bảng 1 – Điều kiện gradient cho hệ thống HPLC

Thời gian, min	Kênh A, %	Kênh B, %	Tốc độ dòng, ml/min
0	75	25	0,5
12	10	90	0,5
18	10	90	0,5
20	75	25	0,5
25	75	25	0,5

b) Điều kiện đối với MS

- Thiết bị MS: ABI 5500 QQQ của AB Sciex ³⁾;
- Nguồn ion hóa: ion hóa phun điện tử ESI, chế độ ion dương;
- Chế độ MRM: theo các điều kiện như Bảng 2.

³⁾ Tiêu chuẩn này không ấn định sử dụng thiết bị này, có thể sử dụng các thiết bị tương đương của các nhà sản xuất khác.

Bảng 2 – Điều kiện khối phổ phân tích bằng hệ thống LC/MS/MS

Tên thuốc bảo vệ thực vật	Ion mẹ, m/z	Ion định lượng, m/z (năng lượng, eV)	Ion định tính, m/z (năng lượng, eV)
Atrazine	216	174 (14)	
Azoxystrobin	404	372 (15)	329 (33)
Carbaryl	202	145 (13)	127 (37)
Chlorpyrifos	350	97 (39)	290 (21)
Chlorpyrifos-methyl	322	125 (25)	281 (9)
Cyprodinil	226	108 (30)	77 (42)
Dichlorvos	221	127 (18)	109 (23)
Ethion	385	199 (22)	
Imalazil	297	159 (24)	201 (18)
Imidachlorprid	256	209 (21)	175 (27)
Kresoxim-methyl	314	206 (20)	222 (14)
Linuron	249	160 (18)	182 (17)
Methamidophos	142	125 (13)	94 (15)
Methomyl	163	88 (13)	106 (13)
d-10 parathion	302	88 (33)	106 (33)
Procymidone	284	256 (18)	
Pymetrozine	218	105 (22)	78 (44)
Tebuconazole	308	125 (39)	151 (31)
Thiabendazole	202	175 (20)	131 (40)
Tolyfluanid	347	238 (16)	
Triphenylphosphat	327	77 (57)	152 (47)

7.6.3 Ví dụ về điều kiện phân tích bằng GC/MS

a) Điều kiện đối với GC

- Thiết bị GC: 7890A của Agilent ⁴⁾
- Cột: DB-5MS (chiều dài cột 30 m, đường kính 0,25 mm, độ dày pha tĩnh 0,25 μ m);
- Chương trình nhiệt độ: nhiệt độ đầu 75 °C, tăng 25 °C/min lên 150 °C và tăng 10 °C/min lên 280 °C, giữ trong 10 min;
- Bộ bơm mẫu SSL: chế độ bơm mẫu không chia dòng, thể tích bơm mẫu 2 μ l, nhiệt độ 250 °C;
- Bộ bơm mẫu PTV: thể tích bơm mẫu 8 μ l, nhiệt độ 75 °C tăng 200 °C/min lên 275 °C;
- Khí mang: heli (He), tốc độ 1,0 ml/min;
- Nhiệt độ bộ phận kết nối khối phổ: 280 °C.

b) Điều kiện đối với MS

- Thiết bị MS: 7000 QQQ của Agilent ⁴⁾;
- Nguồn ion hóa: EI, chế độ ion dương, nhiệt độ nguồn ion 230 °C;
- Chế độ: chọn lọc ion (SIM) theo Bảng 3.

⁴⁾ Tiêu chuẩn này không ấn định sử dụng thiết bị này, có thể sử dụng các thiết bị tương đương của các nhà sản xuất khác.

Bảng 3 – Điều kiện GC/MS phân tích thuốc bảo vệ thực vật

Thuốc bảo vệ thực vật	M ⁺	Ion chính	Các ion khác
Atrazine	215	200	173, 217, 202
Azoxystrobin	403	344	372, 388
Bifenthrin	422	181	165, 166
Carbaryl	201	144	115, 116
Chlorothalonil	264	266	268
Chlorpyrifos	349	97	197, 199, 314, 316
Chlorpyrifos-methyl	321	286	288, 125, 197, 109
λ-Cyhalothrin	449	197	181, 208
Cyprodinil	225	224	210
Dichlorvos	220	109	185, 79, 145
o,p'-DDD	318	235	237, 165, 199
Endosulfan sulfat	420	272	274, 387, 229, 239
Ethion	384	231	153, 97, 125
d6-α-HCH	294	224	222, 226, 185, 189
Imalazil	296	215	173, 217, 175
Kresoxim-methyl	313	131	116, 206
Methamidophos	141	94	95
d10-parathion	301	301	156, 187, 237, 269
Permethrins	390	183	163, 165
o-phenylphenol	170	170	169, 141, 115
Procymidone	283	283	96, 285, 255
Tebuconazole	307	250	163, 125
Thiabendazole	201	201	174
Tolyfluanid	346	137	238, 240, 181
Triphenylphosphat	326	325	233, 215, 169, 170
Trifluralin	335	306	264, 290, 248

8 Tính kết quả

Nồng độ thuốc bảo vệ thực vật trong mẫu thử, C , được biểu thị bằng nanogam trên gam (ng/g) và được tính theo công thức sau:

$$C = \frac{S - y}{\alpha}$$

S là giá trị tín hiệu của mẫu thử (diện tích pic sắc ký hoặc tỷ lệ diện tích pic sắc ký và diện tích pic nội chuẩn, nếu có sử dụng chất chuẩn nội);

y là giá trị hệ số chặn của đường chuẩn (xem 7.5.3);

α là giá trị độ dốc của đường chuẩn (xem 7.5.3).

CHÚ THÍCH: Nếu các kết quả cho thấy có mối quan hệ bậc hai thì có thể sử dụng đường chuẩn bậc hai.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)
Kết quả thử nghiệm liên phòng

Bảng A.1 – Kết quả thử nghiệm liên phòng thử nghiệm đối với các thuốc bảo vệ thực vật có trong nền mẫu (và chlorpyrifos-methyl)

Chất phân tích	Nền mẫu	Nồng độ trung bình, ng/g	$s_r^{a)}$, ng/g	$RSD_r^{b)}$, %	$s_R^{c)}$, ng/g	Độ thu hồi, %	$RSD_R^{d)}$, %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{e)}
Chlorpyrifos-methyl	Nho	165	14	8,5	35	83	21	1,00	11	6-C, 4-C
	Rau diếp	178	20	11	30	89	17	0,81	10	11-SG
	Cam	174	25	14	36	87	20	0,98	12	
Kresoxim-methyl	Nho	9,2	1,9	21 ^{†)}	3,2	–	35 ^{†)}	1,09	12	
Cyprodinil	Nho	112	– ^{g)}	–	18	–	16	0,73	13	
λ-cyhalothrin	Rau diếp	58	6,1	11	11	–	20	0,80	9	11-C
Permethrins	Rau diếp	112	9,8	9,8	41	–	36 ^{†)}	1,63	9	6-C, 1-C
Imidachlorprid	Rau diếp	12	–	–	1,6	–	14	0,44	11	
Ethion	Cam	198	23	23	36	–	18	0,89	11	11-C
Thiabendazole	Cam	53	3,8	3,8	7,6	–	14	0,58	12	
Imalazil	Cam	13	–	–	4,7	–	35 ^{†)}	1,15	8	7-SG

a) s_r : Độ lệch chuẩn lặp lại;

b) RSD_r : Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại;

c) s_R : Độ lệch chuẩn tái lập;

d) RSD_R : Độ lệch chuẩn tương đối tái lập;

e) C: ngoại lệ Cochran, SG: ngoại lệ Grubbs đơn;

†) $RSD_r > 15\%$; $Rec. > 70\%$ hoặc $Rec. > 120\%$; $RSD_R > 25\%$; HorRat > 1,2 và có ít hơn 8 phòng thử nghiệm tham gia;

g) Không áp dụng được.

**Bảng A.2 – Kết quả thử nghiệm liên phòng thử nghiệm
đối với các thuốc bảo vệ thực vật thêm vào mẫu nhỏ**

Chất phân tích	Nồng độ trung bình, ng/g	s_n , ng/g	RSD_n , %	s_R , ng/g	Độ thu hồi, %	RSD_R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{a)}
Atrazine	9,3	0,6	6,9	2,0	93	21	0,65	13	
	45	3,2	7,1	5,7	90	13	0,49	13	
	365	23	6,2	71	91	19	1,04	13	
Azoxystrobin	9,4	0,6	6,6	2,0	94	21	0,64	13	
	92	8,7	9,4	11	92	12	0,51	12	8-SG
	182	17	9,2	26	91	14	0,70	12	8-SG
Bifenthrin	7,8	0,8	11	2,3	78	30 ^b	0,89	11	2-C, 10-C
	86	5,9	6,9	14	86	17	0,73	12	6-C
	923	71	7,7	136	92	15	0,91	13	
Carbaryl	12	1,2	11	2,8	104	27 ^b	0,85	12	5-SG
	50	6,4	13	11	100	22	0,87	13	
	1003	70	7,0	189	100	19	1,18	12	5-C
Chlorothalonil	6,3	0,9	14	2,1	63 ^b	33 ^b	0,97	8	10-C
	59	8,3	14	13	79	23	0,93	10	
	140	19	13	38	70	27 ^b	1,27 ^b	10	
Chlorpyrifos	8,1	1,5	19 ^b	3,0	81	37 ^b	1,12	12	
	68	8,3	12	14	84	20	0,84	13	
	396	25	6,4	50	79	12	0,68	12	11-SG
Cyprodinil ^{c)}	123	13	10	26	101	21	0,95	13	
	240	20	8,3	63	92	26 ^b	1,32 ^b	13	
	581	42	7,3	110	95	19	1,09	13	
o,p'-DDD	8,9	1,4	16 ^b	3,2	89	36 ^b	1,09	12	
	42	3,1	7,3	7,0	84	17	0,65	12	
	445	32	7,1	47	89	10	0,58	11	6-C
Dichlorvos	7,2	1,0	14	1,3	72	18	0,53	11	8-SG
	85	7,4	8,7	15	85	18	0,77	11	4-C
	294	25	8,5	62	98	21	1,10	12	
Endosulfan sulfat	8,6	0,9	10	1,5	86	17	0,52	7 ^b	10-C
	115	14	12	21	77	18	0,81	11	
	415	56	14	111	83	27 ^b	1,47 ^b	11	

Bảng A.2 (kết thúc)

Chất phân tích	Nồng độ trung bình, ng/g	s_r , ng/g	RSD_r , %	s_R , ng/g	Độ thu hồi, %	RSD_R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{a)}
Imalazil	7,6	0,8	9,8	3,1	76	41 ^b	1,22 ^b	11	
	50	2,5	4,9	15	67 ^b	30 ^b	1,19	10	8-C
	432	53	12	161	78	37 ^b	2,06 ^b	11	
Imidachlorprid	8,8	0,8	8,9	3,0	88	34 ^b	1,04	13	
	45	3,5	7,7	8,9	99	21	0,78	13	
	218	18	8,2	24	97	11	0,56	12	8-SG
Linuron	9,9	1,7	17 ^b	2,9	99	29 ^b	0,90	11	
	99	7,4	7,4	15	99	15	0,67	12	
	971	65	6,7	191	97	20	1,23 ^b	12	
Methamidophos	10	2,9	29 ^b	3,0	101	30 ^b	0,95	9	5-SG
	80	8,0	10	14	80	18	0,77	12	
	852	72	8,4	119	85	14	0,85	11	8-SG
Methomyl	9,3	1,2	12	2,9	93	32 ^b	0,98	12	
	50	3,3	6,7	9,3	100	19	0,74	13	
	204	10	4,9	26	102	13	0,63	13	
Procymidone	8,2	0,7	8,2	2,0	82	24	0,74	11	5-SG
	64	6,0	9,4	16	85	24	1,01	13	
	428	16	3,8	70	86	16	0,90	12	9-C
Pymetrozine	6,2	1,2	20 ^b	1,6	62 ^b	27 ^b	0,77	11	
	47	3,1	6,7	9,6	62 ^b	20	0,81	11	
	341	20	5,8	59	68 ^b	17	0,92	11	
Tebuconazole	9,2	1,1	12	1,2	92	13	0,41	12	3&4-DG
	63	5,5	8,7	8,8	84	14	0,58	13	
	439	29	6,7	84	88	19	1,06	13	
Tolyfluanid	7,9	1,0	12	3,1	79	39 ^b	1,19	13	
	34	4,3	13	13	67 ^b	37 ^b	1,41 ^b	13	
	144	13	8,8	42	72	29 ^b	1,37 ^b	13	
Trifluralin	7,8	0,7	8,5	1,8	78	23	0,68	12	10-C
	58	3,7	6,4	14	77	25	1,02	13	
	379	19	5,1	48	76	13	0,69	10	6-C, 4-C, 11-SG

^{a)} C: ngoại lệ Cochran, SG: ngoại lệ Grubbs đơn, DG: các ngoại lệ Grubbs kép;
^{b)} $RSD_r > 15\%$; $Rec. > 70\%$ hoặc $Rec. > 120\%$; $RSD_R > 25\%$; $HorRat > 1,2$ hoặc có ít hơn 8 phòng thử nghiệm tham gia;
^{c)} Cyprodinil có mặt trong nho và ảnh hưởng đến sự định lượng.

Bảng A.3 – Kết quả thử nghiệm liên phòng đối với các thuốc bảo vệ thực vật thêm vào mẫu rau diếp

Chất phân tích	Nồng độ trung bình, ng/g	s_r , ng/g	RSD_r , %	s_R , ng/g	Độ thu hồi, %	RSD_R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{a)}
Atrazine	9,9	1,5	15	1,8	99	18	0,56	11	
	70	7,9	11	15	93	21	0,88	12	
	930	50	5,4	166	93	18	1,11	11	5-C
Azoxystrobin	10	0,8	7,6	1,8	102	18	0,56	12	
	47	2,4	5,2	6,5	93	14	0,55	12	
	531	32	6,1	88	106	17	0,94	12	
Bifenthrin	9,1	0,8	9,1	1,4	91	16	0,48	11	
	66	8,0	12	9,4	88	14	0,59	11	
	217	27	12	33	87	15	0,77	11	
Carbaryl	9,4	1,1	12	2,0	94	22	0,67	12	
	92	6,1	6,7	9,0	92	9,8	0,43	11	8-SG
	589	38	6,4	127	98	22	1,24 ^b	12	
Chlorothalonil	6,2	0,8	14	2,0	62 ^b	32 ^b	0,93	6 ^b	
	28	10	37 ^b	14	70	48 ^b	1,77 ^b	7 ^b	
	684	134	20 ^b	205	68 ^b	30 ^b	1,77 ^b	6 ^b	
Chlorpyrifos	9,0	2,1	24 ^b	2,3	90	26 ^b	0,79	9	12-SG, 10&11-DG
	86	9,4	11	20	86	23	1,01	11	11-SG
	179	18	10	30	90	17	0,82	11	11-SG
Cyprodinil	9,7	1,0	10	1,4	97	14	0,44	11	11-SG
	44	2,7	6,1	8,9	89	20	0,79	11	11-SG
	848	61	7,2	117	85	14	0,84	10	8-SG
o,p'-DDD	8,9	0,6	7,0	1,9	89	21	0,66	8	
	81	4,8	5,9	12	81	15	0,63	9	11-C
	214	19	8,7	27	86	13	0,62	10	
Dichlorvos	5,2	1,0	20 ^b	2,4	52 ^b	45 ^b	1,29 ^b	12	
	58	6,6	11	12	77	20	0,81	12	
	838	50	6,0	224	84	27	1,63 ^b	11	
Endosulfan sulfat	5,6	3,3	59 ^b	2,5	56 ^b	45 ^b	1,28 ^b	2 ^b	
	38	9,6	25 ^b	15	75	39 ^b	1,48 ^b	7 ^b	
	769	330	43 ^b	312	77	40 ^b	2,44 ^b	7 ^b	

Bảng A.3 (kết thúc)

Chất phân tích	Nồng độ trung bình, ng/g	s_r , ng/g	RSD_r , %	s_R , ng/g	Độ thu hồi, %	RSD_R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{a)}
Imalazil	7,6	0,3	3,5	3,5	76	39 ^b	1,18	8	2-C
	72	3,7	5,2	24	57 ^b	33 ^b	1,39 ^b	11	
	589	47	7,9	229	59 ^b	39 ^b	2,25 ^b	11	
Imidachlorprid ^{c)}	22	1,31,3	6,2	1,7	100	7,9	0,28	11	8-SG
	84	6,2	7,4	8,1	97	9,6	0,41	12	
	515	21	4,2	53	101	10	0,58	11	5-C
Linuron	8,6	1,1	12	1,5	86	17	0,53	11	
	46	2,2	4,9	7,4	91	16	0,63	10	2-C
	234	14	5,8	25	94	10	0,53	11	
Methamidophos	8,8	0,8	8,5	1,3	88	15	0,46	8	6-C
	66	4,5	6,9	12	82	18	0,72	11	
	538	37	6,8	63	84	12	0,67	9	5-C, 8-SG
Methomyl	9,7	0,8	8,6	1,0	96	10	0,32	10	
	99	8,0	8,1	6,4	99	6,5	0,29	10	2-SG
	10	24	2,4	168	100	17	1,05	11	
Procymidone	92	0,6	6,2	2,2	101	22	0,68	8	2-C
	967	8,5	9,2	15	92	17	0,73	11	
	6,9	118	12	129	97	13	0,83	11	
Pymetrozine	6,9	0,4	6,1	1,4	69 ^b	20	0,59	10	
	33	1,6	4,7	4,6	67 ^b	14	0,51	9	11-C
	127	8,5	6,7	17	63 ^b	13	0,61	10	
Tebuconazole	9,7	0,7	6,9	1,2	97	13	0,40	11	4-C
	89	6,8	7,7	11	89	12	0,52	12	
	948	42	4,4	226	95	24	1,48 ^b	11	4-C
Tolyfluanid	3,7	1,1	30 ^b	2,2	37 ^b	59 ^b	1,59 ^b	4 ^b	
	9,3	3,7	40 ^b	4,1	9,3 ^b	44 ^b	1,37 ^b	8	3-SG, 8-SG
	142	22	15	86	14 ^b	61 ^b	2,84 ^b	8	12-C, 3&8-DG
Trifluralin	10	1,4	13	1,7	103	17	0,54	11	
	42	4,5	11	9,0	84	22	0,83	11	
	169	25	15	30	84	18	0,84	11	

a) C: ngoại lệ Cochran, SG: ngoại lệ Grubbs đơn, DG: các ngoại lệ Grubbs kép;
b) $RSD_r > 15\%$; Rec. > 70% hoặc Rec. > 120%; $RSD_R > 25\%$; HorRat > 1,2 hoặc có ít hơn 8 phòng thử nghiệm tham gia;
c) Imidachlorprid có mặt trong rau diếp không được tính vào SD.

Bảng A.4 – Kết quả thử nghiệm liên phòng đối với các thuốc bảo vệ thực vật thêm vào mẫu cam

Chất phân tích	Nồng độ trung bình, ng/g	s_r , ng/g	RSD_r , %	s_R , ng/g	Độ thu hồi, %	RSD_R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{a)}
Atrazine	8,9	1,0	11	1,9	89	21	0,65	11	2-C
	90	8,2	9,1	12	90	13	0,57	12	
	187	19	10	27	93	14	0,69	12	
Azoxystrobin	8,4	1,3	16 ^b	1,8	84	21	0,65	11	
	65	5,2	8,0	8,1	86	12	0,52	12	
	853	35	4,1	82	85	9,6	0,59	11	11-C
Bifenthrin	9,7	2,3	24 ^b	2,3	97	24	0,75	10	9-SG
	45	2,5	5,6	6,8	91	15	0,59	10	2-C
	488	51	10	76	98	16	0,87	12	
Carbaryl	8,4	0,6	7,3	2,1	84	25	0,77	10	
	66	5,0	7,5	14	88	21	0,88	11	
	172	8,8	5,1	34	86	20	0,95	12	
Chlorothalonil	4,8	0,8	16 ^b	2,7	48 ^b	56 ^b	1,57 ^b	3 ^b	
	70	14	20 ^b	29	70	42 ^b	1,74 ^b	6 ^b	
	330	137	42 ^b	131	66 ^b	40 ^b	2,09 ^b	7 ^b	
Chlorpyrifos	11	1,6	14	5,0	111	45 ^b	1,58 ^b	9	2-C
	82	4,5	5,6	12	82	15	0,64	10	9-C
	953	97	10	284	95	30 ^b	1,85 ^b	12	11-C
Cyprodinil	8,7	0,9	10	2,0	87	23	0,72	12	
	56	4,5	8,0	9,0	75	16	0,65	12	
	199	12	6,2	35	80	18	0,86	12	
o,p'-DDD	9,1	0,6	7,2	1,8	91	20	0,60	9	9-C
	74	5,1	6,9	9,8	99	13	0,56	10	10-C
	967	81	8,4	191	97	20	1,22 ^b	11	
Dichlorvos	9,3	0,8	8,1	1,0	93	11	0,35	7 ^b	12-C
	43	2,2	5,2	8,0	85	19	0,73	8	12-SG
	446	22	5,0	54	89	12	0,68	10	
Endosulfan sulfat	12	5,4	44 ^b	5,4	124 ^b	43 ^b	1,40 ^b	4 ^b	3-SG
	83	19	23 ^b	19	83	23	1,01	10	
	240	35	15	61	80	25	1,28 ^b	10	

Bảng A.4 (kết thúc)

Chất phân tích	Nồng độ trung bình, ng/g	s_r , ng/g	RSD_r , %	s_R , ng/g	Độ thu hồi, %	RSD_R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm	Các phòng thử nghiệm ngoại lệ ^{a)}
Imazalil ^{c)}	22	1,7	7,7	6,2	96	28 ^{b)}	0,98	8	7-C
	58	4,3	7,4	13	92	22	0,91	9	
	186	9,7	5,2	41	87	22	1,06	10	
Imidachlorprid	10	1,1	10	2,8	104	27 ^{b)}	0,86	11	
	93	6,5	7,0	12	93	13	0,57	11	
	989	64	6,5	124	99	13	0,78	11	
Linuron	7,8	1,3	17 ^{b)}	2,7	78	35 ^{b)}	1,04	11	
	60	3,0	5,0	13	86	21	0,86	11	
	387	26	6,6	42	79	11	0,59	9	11,1-DG
Methamidophos	9,2	1,1	12	1,5	92	16	0,49	8	9-C
	42	3,5	8,2	5,6	85	13	0,52	8	4-C
	211	12	5,5	31	85	15	0,73	9	4&9-DG
Methomyl	8,5	0,8	8,9	2,8	85	33 ^{b)}	0,99	9	7-C
	68	4,8	7,0	8,7	91	13	0,54	12	
	492	19	3,9	60	98	12	0,69	12	
Procymidone	11	0,9	8,1	3,9	108	36 ^{b)}	1,15	8	12-C
	43	3,5	8,0	5,8	86	14	0,53	10	10-C
	170	16	9,7	25	85	15	0,71	11	
Pymetrozine	7,5	1,3	18 ^{b)}	2,1	75	28 ^{b)}	0,82	10	
	77	5,9	7,7	10	77	14	0,57	10	
	789	38	4,8	117	79	15	0,89	9	12-C
Tebuconazole	8,7	0,7	8,0	1,2	87	14	0,42	11	
	41	2,2	5,4	6,2	82	15	0,58	12	
	177	14	7,9	28	88	16	0,76	12	
Tolyfluanid	5,8	1,2	20 ^{b)}	1,4	58 ^{b)}	24	0,69	9	11-SG
	46	7,5	16 ^{b)}	14	61 ^{b)}	31 ^{b)}	1,21 ^{b)}	11	9-C
	356	54	15	134	71	38 ^{b)}	2,02 ^{b)}	12	
Trifluralin	8,6	0,4	4,5	2,4	86	28 ^{b)}	0,87	9	9-C
	92	8,6	9,4	11	92	12	0,54	12	
	915	60	6,5	194	92	21	1,31 ^{b)}	11	6-C

^{a)} C: ngoại lệ Cochran, SG: ngoại lệ Grubbs đơn, DG: các ngoại lệ Grubbs kép;

^{b)} $RSD_r > 15\%$; Rec. $> 70\%$ hoặc Rec. $> 120\%$; $RSD_R > 25\%$; HorRat $> 1,2$ hoặc có ít hơn 8 phòng thử nghiệm tham gia;

^{c)} Imazalil có mặt trong cam không được tính vào SD.

**Bảng A.5 – Kết quả trung bình thử nghiệm liên phòng
phân tích thuốc bảo vệ thực vật bổ sung và sẵn có trong mẫu ^{a)}**

Nền mẫu	Độ thu hồi, %	RSD _r , %	RSD _R , %	HorRat	Số phòng thử nghiệm tham gia (n)
Nho	86 ± 11	10 ± 4	22 ± 8	0,90 ± 0,29	12 ± 1
Rau diếp	87 ± 12	10 ± 7	20 ± 9	0,83 ± 0,45	10 ± 1
Cam	87 ± 15	10 ± 6	20 ± 8	0,84 ± 0,37	10 ± 2
Tổng số	87 ± 11	10 ± 6	21 ± 8	0,86 ± 0,37	11 ± 2
Sẵn có	– ^{b)}	12 ± 4	22 ± 8	0,92 ± 0,30	11 ± 2

^{a)} Các dữ liệu từ ít hơn 7 phòng thử nghiệm đã loại trừ ngoại lệ;

^{b)} Không áp dụng được.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 5139:2008 (CAC/GL 33-1999) *Phương pháp khuyến cáo lấy mẫu để xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật phù hợp với các giới hạn dư lượng tối đa (MRL)*
-