

## Lời nói đầu

TCVN 8171-1 : 2009 hoàn toàn tương đương với EN 14185-1 : 2003;

TCVN 8171-1 : 2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 8171 (EN 14185), *Thực phẩm không chứa chất béo – Xác định dư lượng N-methylcarbamate* gồm các phần sau đây:

- TCVN 8171-1 : 2009 (EN 14185-1 : 2003), *Phần 1: Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao có làm sạch bằng chiết pha rắn.*
- TCVN 8171-2 : 2009 (EN 14185-2 : 2006), *Phần 2: Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao có làm sạch trên cột diatomit.*

**Thực phẩm không chứa chất béo –**

**Xác định dư lượng N-methylcarbamat –**

**Phần 1: Phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao  
có làm sạch bằng chiết pha rắn**

*Non-fatty food – Determination of N-methylcarbamate residues –  
Part 1: High performance liquid chromatographic (HPLC )  
method with solid phase extraction (SPE) clean-up*

## **1 Phạm vi áp dụng**

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định dư lượng thuốc bảo vệ thực vật N-methylcarbamat trong ngũ cốc, rau và quả bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Phương pháp này đã được thẩm định thành công trong một nghiên cứu cộng tác về các hợp chất gốc của carbaryl, carbofuran, methiocarb, methomyl, oxamyl và propoxur và về methiocarb sulfoxide trong ớt xanh và táo ở các mức từ 0,08 mg/kg đến 0,9 mg/kg.

Chưa có các dữ liệu về hiệu năng của phương pháp trong xác định các chất chuyển hóa khác cho dù đã biết rằng phương pháp sẽ không thực hiện đối với oxamyl và methomyl oxim.

## **2 Tài liệu viện dẫn**

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.*

### 3 Nguyên tắc

Mẫu được đồng hóa với axeton, diclometan và dầu nhẹ và mẫu đã đồng hóa được ly tâm tạo ra hai lớp nổi phía trên. Lớp nước phía trên được cho bay hơi đến khô. Dịch chiết này cũng có thể được làm sạch bằng chiết pha rắn (SPE) sử dụng cột nhồi bằng silica được gắn aminopropyl. Trong dung dịch chiết, N-methylcarbammat được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) pha đảo có thủy phân sau cột. Metylamin tạo thành được cho phản ứng với o-phthaldialdehyd và 2-mercaptoetanol và các dẫn xuất được phát hiện bằng detector huỳnh quang. Thông tin bổ sung về phương pháp, xem [1] đến [4].

### 4 Thuốc thử

#### 4.1 Yêu cầu chung

Thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, tốt nhất là loại dùng cho HPLC và phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật và nước được sử dụng để làm sạch dụng cụ thủy tinh phải là nước cất hoặc nước loại 1 theo TCVN 4851 (ISO 3696), trừ khi có qui định khác.

Ghi nhãn tất cả các vật chứa thuốc thử chuẩn với tên và độ tinh khiết của thuốc bảo vệ thực vật. Về tên hóa chất và cấu trúc, xem ISO 1750.

#### 4.2 Các khía cạnh an toàn liên quan đến thuốc thử

**CẢNH BÁO** – Nhiều loại thuốc bảo vệ thực vật gây độc bằng các đường tiếp xúc khác nhau, đặc biệt là ở dạng đậm đặc. Khi làm việc với các loại thuốc bảo vệ thực vật này, phải tuân thủ các cảnh báo về an toàn của nhà sản xuất.

Hơi của các dung môi rất độc. Một vài loại dung môi này dễ dàng hấp thụ qua da. Sử dụng tủ hút khói hiệu quả tốt để loại bỏ các dung môi này khi chúng ở dạng tự do.

#### 4.3 Axeton.

#### 4.4 Axit axetic.

#### 4.5 Diclo metan.

#### 4.6 Dầu nhẹ, dải sôi từ 40 °C đến 60 °C

#### 4.7 Metanol.

#### 4.8 Axetonitril.

#### 4.9 Hỗn hợp dung môi

Hỗn hợp của axetonitril (4.8) và axit axetic (4.4) với tỷ lệ 99,9 : 0,1 (thể tích).

## 4.22 Chất chuẩn

Các loại thuốc bảo vệ thực vật N-methylcarbamat như aldicarb, bendiocarb, bufencarb, butocarboxim, carbonolat, carbaryl, carbofuran, cloethocarb, dithiocarb, ethidimuron, ethiofencarb, fenobucarb, isoprocarb, methiocarb, mathomyl, oxamyl, promecarb, propoxur, thiofanox, chất chuyển hóa 3-hydroxy-carbofuran và sulfoxide và các chất chuyển hóa của sulfon của aldicarb, butocarboxim, ethiofencarb, methiocarb và thiofanox.

## 4.23 Dung dịch gốc thuốc bảo vệ thực vật, $\rho = 0,05 \mu\text{g/ml}$

Hòa tan 10 mg chất chuẩn (4.22) trong 10 ml axetonitril (4.8) và pha loãng 100  $\mu\text{l}$  dung dịch thu được đến 100 ml trong bình định mức bằng hỗn hợp dung môi (4.9) để cho dung dịch A (1  $\mu\text{g/ml}$ ). Trong một bình định mức thứ hai, pha loãng 5 ml dung dịch A đến 100 ml bằng hỗn hợp của axetonitril (4.8) và nước (4.10) với tỷ lệ 20 : 80 (thể tích).

## 4.24 Dung dịch chuẩn thuốc bảo vệ thực vật

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn thích hợp bằng cách pha loãng các lượng thích hợp của các dung dịch gốc thuốc bảo vệ thực vật (4.23) với hỗn hợp của dung dịch chuẩn nội (4.21) và nước (4.10) với tỷ lệ 20 : 80 (thể tích).

## 4.25 Dung dịch hãm

Trộn 2 g etylen glycol với 8 ml axeton (4.3).

# 5 Thiết bị và dụng cụ

## 5.1 Yêu cầu chung

Tất cả các dụng cụ thủy tinh được sử dụng phải được rửa kỹ. Có thể sử dụng dung dịch tẩy rửa nóng, nhưng sau đó phải được tráng kỹ bằng nước cất và axeton trước khi làm khô.

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

## 5.2 Máy thái thực phẩm dạng nhỏ.

## 5.3 Bộ đồng hóa hoặc bộ trộn tốc độ cao.

## 5.4 Máy ly tâm, có các ống polytetrafluoroetylen dung tích 200 ml và có thể tạo ra tần số ít nhất ở 4 000 $\text{min}^{-1}$ .

## 5.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ ở 50 °C đến 60 °C.

**5.6 Cột SPE**, được nhồi bằng 100 mg silica liên kết aminopropyl, cỡ hạt 40  $\mu\text{m}$  (ví dụ: Bond-Elut®<sup>1</sup>) (tùy chọn).

**5.7 Thiết bị rửa giải cột SPE (5.6)** có bộ phận hút (tùy chọn).

CHÚ THÍCH Thiết bị rửa giải SPE tự động có bán sẵn trên thị trường [4].

**5.8 Sắc ký lỏng hiệu năng cao**, được trang bị:

**5.8.1** Hệ thống bơm có van bơm sáu cổng với vòng lấy mẫu 100  $\mu\text{l}$ , hệ thống sau cột (gồm cột phản ứng, chi tiết chữ T thể tích chết thấp và bơm thuốc thử không xung), detector huỳnh quang và bộ phận định lượng có hệ thống tích phân.

**5.8.2** Cột bảo vệ HPLC, cột bằng thép không gỉ, dài 10 mm, đường kính trong 4,0 mm (ví dụ: LiChroCART®<sup>1</sup>, được nhồi bằng Superpher®<sup>1</sup> 60 RP-8 (cỡ hạt 4  $\mu\text{m}$ )).

**5.8.3** Cột phân tích HPLC, cột bằng thép không gỉ, dài 250 mm, đường kính trong 4,0 mm (ví dụ: LiChroCART®<sup>1</sup>, được nhồi bằng Superpher®<sup>1</sup> 60 RP-8 (cỡ hạt 4  $\mu\text{m}$ )).

**5.8.4** Cột thủy phân sau cột, cột bằng thép không gỉ, dài 50 mm, đường kính trong 4,0 mm, được nhồi Aminex®<sup>1</sup> A 27 (15  $\mu\text{m}$ ).

**5.9 Thiết bị siêu âm.**

**5.10 Bộ lọc màng**, cỡ lỗ 0,45  $\mu\text{m}$ .

## 6 Lấy mẫu

Chuẩn bị mẫu phòng thử nghiệm theo phương pháp khuyến cáo chung cho việc lấy mẫu để thu được mẫu đại diện của sản phẩm cần phân tích.

## 7 Chuẩn bị mẫu thử

Khi có thể, tiến hành phân tích mẫu ngay khi được chuyển đến phòng thử nghiệm. Không phân tích mẫu phòng thử nghiệm khi mẫu đã bị hỏng.

Để phân tích, chỉ lấy phần mẫu phòng thử nghiệm áp dụng giới hạn dư lượng tối đa. Có thể không phải loại bỏ tiếp các phần của thực vật. Ghi lại các phần của thực vật đã loại bỏ. Mẫu đã chuẩn bị này là mẫu thử.

<sup>1</sup> Bond-Elut® là tên thương mại của sản phẩm do Analytichem International, Harbor City, CA, USA. LiChroCART® cung cấp và Superspher® là tên thương mại của sản phẩm do Merck, Darmstadt, Germany cung cấp. Aminex là tên thương mại của sản phẩm do Bio-Rad, Hercules, CA, USA cung cấp. Các thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này còn CEN không ấn định sử dụng sản phẩm này. Có thể sử dụng các sản phẩm khác nếu cho các kết quả tương tự.

Nếu mẫu không thể phân tích ngay thì bảo quản ở 0 °C đến 5 °C không quá 3 ngày trước khi phân tích.

Tiến hành giảm mẫu phòng thử nghiệm theo cách sao cho thu được các phần đại diện (ví dụ: được chia bốn và chọn hai phần đối diện). Khi các mẫu thử là những đơn vị nhỏ (ví dụ như quả nhỏ, đậu đỗ, ngũ cốc) thì mẫu thử phải được trộn đều trước khi cân để lấy phần mẫu thử. Khi mẫu thử là các đơn vị lớn, thì lấy các phần hình nêm V (ví dụ: rau và quả lớn) hoặc các lát cắt ngang (ví dụ: dưa chuột) gồm cả vỏ.

Từ mỗi mẫu thử, lấy ra các phần có thể gây nhiễu đến qui trình phân tích. Trong trường hợp đối với quả có hạt thì loại bỏ hạt. Chú ý sao cho không loại bỏ phần thịt quả. Cơ sở để tính dư lượng là khối lượng ban đầu của mẫu thử ban đầu (cả hạt).

Nếu mẫu cần phải bảo quản quá 3 ngày thì mẫu phải được làm đông lạnh ở âm 18 °C hoặc thấp hơn. Để đảm bảo rằng ngay cả sau khi được rã đông có thể lấy được mẫu đại diện, thì chuẩn bị các phần của sản phẩm đủ cho một lần phân tích.

Cắt mẫu thử và cân các phần mẫu thử 15 g chính xác đến  $\pm 1\%$ .

## 8 Cách tiến hành

### 8.1 Yêu cầu chung

Chuẩn bị mẫu trắng thuốc thử và các mẫu trắng chất nền và thực hiện các phép thử thu hồi thích hợp với các giới hạn dư lượng tối đa.

CHÚ THÍCH Người phân tích phải hiểu rõ về phương pháp trước khi bắt đầu phân tích.

### 8.2 Tách chiết

Đồng hóa 15 g (*m*) mẫu thử với 30 ml axeton (4.3) 30 s trong ống ly tâm (5.4). Thêm 30 ml diclometan (4.5) và 30 ml dầu nhẹ (4.6) và đồng hóa tiếp trong 30 s. Ly tâm ống 5 min ở tốc độ 4000 min<sup>-1</sup>. Gạn lớp phía trên (hữu cơ) cho vào bình nón.

Chuyển từng phần 2 ml lớp này sang ống nghiệm và thêm 50 µl dung dịch hãm (4.25). Cho bay hơi nhẹ dung môi đến gần khô.

### 8.3 Chiết pha rắn (tùy chọn)

Hút 1 ml diclometan (4.5) cho qua cột SPE (5.6) được gắn với thiết bị rửa giải thích hợp (5.7), rồi gạn bỏ dịch rửa giải. Hòa tan phần cặn thu được trong 8.2 bằng 1 ml diclometan. Cho dung dịch này vào ống SPE, dùng 0,5 ml diclometan để tráng và bắt đầu thu lấy dịch rửa giải cho vào ống nghiệm. Tiếp tục rửa giải bằng 1 ml hỗn hợp rửa giải SPE (4.20), thu lấy dịch rửa giải này vào cùng ống nghiệm và cho bay hơi nhẹ dung môi đến gần khô.

**CHÚ THÍCH** Bước làm sạch này loại bỏ đáng kể lượng chất chiết đồng thời ra khỏi chất nền và tránh các chất gây nhiễu lắng trên cột bảo vệ HPLC.

#### 8.4 Đo HPLC

Hòa tan cặn thu được trong 8.2 hoặc 8.3 trong 1 ml dung dịch chuẩn nội (4.21) trên thiết bị siêu âm (5.9). Lọc dung dịch qua màng lọc (5.10) và bơm 100  $\mu$ l lên hệ thống HPLC (5.8) có cột bảo vệ như ví dụ trong 5.8.2 và cột phân tích như ví dụ trong 5.8.3.

Áp dụng ví dụ như chương trình gradient ba yếu tố sau đây, ở tốc độ dòng 0,75 ml/min:

75 % pha động A và 25 % pha động B trong 5 min, sau đó áp dụng tuyến tính từ 0 % pha động C đến 100 % pha động C trong 20 min, cuối cùng 100 % pha động C trong 5 min.

Cho dịch rửa giải từ cột phân tích HPLC qua cột phản ứng như trong 5.8.1 có chứa cột thủy phân sau cột như trong 5.8.4. Duy trì cột phản ứng ở 120 °C.

Để rửa giải cột thủy phân, thêm thuốc thử OPA (4.19) với tốc độ 0,1 ml/min qua chi tiết chữ T thể tích chết thấp.

Cho hỗn hợp đi qua detector huỳnh quang. Các bước sóng kích thích và phát xạ được cài đặt tương ứng 340 nm và 455 nm.

**CHÚ THÍCH** Có thể thay thế các điều kiện vận hành của HPLC khác nếu chúng cho kết quả tương tự. Xem Phụ lục B về các điều kiện vận hành thay thế của HPLC.

### 9 Tính kết quả

Để nhận biết N-methylcarbammat có mặt, so sánh thời gian lưu của các pic thu được đối với dung dịch mẫu thử thu được bằng cách trộn và pha loãng dung dịch gốc thuốc bảo vệ thực vật (4.23) thích hợp.

Để định lượng N-methylcarbammat đã nhận dạng, sử dụng các dung dịch chuẩn (4.24) của hợp chất này có các nồng độ thích hợp, ví dụ: từ 0,005  $\mu$ g/ml đến 0,05  $\mu$ g/ml. Tiến hành theo 8.4. Trong sắc ký đồ, đo chiều cao pic (hoặc diện tích pic) thu được đối với hợp chất và trimethacarb chuẩn và tính thương số của hai giá trị này. Đối với đường chuẩn, đánh dấu các lượng của hợp chất có chứa trong 1 ml của từng dung dịch chuẩn trên trục hoành và các thương số thu được trên trục tung.

Đối với pic thu được của hợp chất đã nhận dạng từ dung dịch mẫu thử, tính thương số như được đề cập ở trên và đọc khối lượng trong dung dịch mẫu thử từ đường chuẩn. Tính phần khối lượng,  $w$ , bằng miligam trên kilogam mẫu thử, theo công thức (1):

$$w = \frac{x}{m} \quad (1)$$

trong đó:

$x$  là khối lượng của hợp chất độc được từ đường chuẩn, tính bằng microgam ( $\mu\text{g}$ );

$m$  là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

## 10 Phép thử khẳng định

Cần tiến hành các phép thử khẳng định việc nhận dạng và định lượng các dư lượng thuốc bảo vệ thực vật quan sát được, đặc biệt là trong các trường hợp cho thấy vượt quá các mức giới hạn dư lượng tối đa (MRL).

Phương pháp cặp đôi sắc ký khí khối phổ (GC-MS) là phương pháp điển hình để khẳng định việc nhận dạng và định lượng N-methylcarbamate. Đối với các hợp chất này mà không phân tích được bằng sắc ký khí, thì các kỹ thuật sử dụng sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS) hoặc sắc ký lỏng detector chuỗi diot quang (LC-DAD) là thích hợp.

## 11 Độ chụm, độ lặp lại và độ tái lập

Các chi tiết về phép thử liên phòng thử nghiệm quốc tế về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A. Các giá trị thu được từ phép thử này có thể không áp dụng được cho dây nồng độ và chất nền khác với các giá trị nêu trong Bảng 1 và Phụ lục A.

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm riêng rẽ, khi sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do cùng một người tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, dùng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn không lớn hơn 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại,  $r$ .

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm riêng rẽ, trên vật liệu thử giống hệt nhau do hai phòng thử nghiệm thực hiện không quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn tái lập,  $R$ .



Bảng 1 – Dữ liệu về độ chụm

Hợp chất		Mẫu				
		Ớt xanh			Táo	
Carbaryl	$\bar{x}$ mg/kg	0,098	0,780	0,980	0,084	0,890
	$r$ mg/kg	0,013	0,096	0,222	0,005	0,270
	$R$ mg/kg	0,045	0,340	0,340	0,070	0,390
Carbofuran	$\bar{x}$ mg/kg	0,094	0,770	0,930	0,084	0,890
	$r$ mg/kg	0,022	0,093	0,089	0,007	0,280
	$R$ mg/kg	0,036	0,510	0,370	0,047	0,320
Methiocarb	$\bar{x}$ mg/kg	0,083	0,680	0,880	0,080	0,730
	$r$ mg/kg	0,015	0,112	0,108	0,010	0,063
	$R$ mg/kg	0,052	0,340	0,450	0,063	0,720
Methiocarb sulfoxide	$\bar{x}$ mg/kg	0,082	0,610	0,830	0,083	0,830
	$r$ mg/kg	0,023	0,148	0,166	0,014	0,142
	$R$ mg/kg	0,058	0,530	0,740	0,049	0,220
Methomyl	$\bar{x}$ mg/kg	0,094	0,710	0,910	0,088	0,860
	$r$ mg/kg	0,015	0,085	0,076	0,007	0,250
	$R$ mg/kg	0,053	0,290	0,420	0,015	0,250
Oxamyl	$\bar{x}$ mg/kg	0,090	0,680	0,840	0,080	0,820
	$r$ mg/kg	0,016	0,133	0,175	0,007	0,280
	$R$ mg/kg	0,062	0,410	0,380	0,022	0,280
Propoxur	$\bar{x}$ mg/kg	0,100	0,740	0,890	0,092	0,880
	$r$ mg/kg	0,027	0,107	0,240	0,006	0,270
	$R$ mg/kg	0,064	0,500	0,570	0,024	0,360

## 12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- viện dẫn tiêu chuẩn này;
- kết quả thu được và đơn vị tính;
- ngày lấy mẫu và phương pháp lấy mẫu (nếu biết);
- ngày nhận mẫu;
- ngày thử nghiệm;
- mọi điểm đặc biệt quan sát được trong quá trình thử nghiệm;
- mọi chi tiết thao tác không được quy định trong phương pháp này hoặc tùy chọn có thể ảnh hưởng đến kết quả.

## Phụ lục A

(Tham khảo)

### Dữ liệu về độ chụm

Các thông số sau đây đã được xác định trong nghiên cứu liên phòng thử nghiệm phù hợp với ISO 5725. Các phép thử do 8 phòng thử nghiệm tham gia thực hiện dưới sự hướng dẫn của Ban thanh tra về bảo vệ sức khỏe, Alkmaar, Amsterdam và Groningen, Hà lan.

#### A.1 – Dữ liệu về độ chụm đối với Carbaryl

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	16	16	16	16	16
Số lượng phòng thử nghiệm	8	8	8	6	8
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	8	8	8	7	8
Số lượng ngoại lệ	0	0	0	1	0
Số kết quả được chấp nhận	16	16	16	14	16
Giá trị trung bình $\bar{x}$ , mg/kg	0,098	0,780	0,980	0,084	0,890
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,005	0,034	0,079	0,002	0,100
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	4,7	4,4	8,0	2,2	11,0
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,013	0,096	0,222	0,005	0,270
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,016	0,120	0,120	0,025	0,140
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	16	16	12	30	15
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,045	0,340	0,340	0,070	0,390
Chỉ số Horrat ( $H_{or}$ )	0,70	0,96	0,75	1,29	0,92

**Bảng A.2 – Dữ liệu về độ chụm về Carbofuran**

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	16	16	16	16	16
Số lượng phòng thử nghiệm	8	8	8	8	8
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	7	8	8	7	6
Số lượng ngoại lệ	1	0	0	1	0
Số kết quả được chấp nhận	14	16	16	14	16
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ), mg/kg	0,094	0,770	0,930	0,084	0,890
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,008	0,033	0,032	0,003	0,100
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	8,0	4,3	3,4	3,0	11,0
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,022	0,093	0,089	0,007	0,280
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,013	0,18	0,13	0,017	0,11
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	14	24	14	20	13
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,036	0,510	0,370	0,047	0,320
Chỉ số Horrat ( $H_{or}$ )	0,61	1,45	0,86	0,86	0,80

**Bảng A.3 – Dữ liệu về độ chụm đối với Methiocarb**

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	16	16	16	16	16
Số lượng phòng thử nghiệm	8	8	8	8	8
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	7	7	7	6	6
Số lượng ngoại lệ	1	1	1	2	2
Số kết quả được chấp nhận	14	14	14	12	12
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ), mg/kg	0,083	0,680	0,880	0,080	0,730
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,005	0,040	0,039	0,00	0,02
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	6,3	5,9	4,4	4 4,4	3 3,1
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,015	0,112	0,108	0,010	0,063
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,019	0,120	0,160	0,023	0,26
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	22	18	18	28	0 35
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,052	0,340	0,450	0,063	0,720
Chỉ số Horrat ( $H_{or}$ )	0,94	1,06	1,10	1,20	2,08

**Bảng A.4 – Dữ liệu về độ chụm đối với Methiocarb sulfoxide**

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	16	16	16	16	16
Số lượng phòng thử nghiệm	8	8	8	8	8
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	8	7	8	8	7
Số lượng ngoại lệ	0	1	0	0	1
Số kết quả được chấp nhận	16	14	16	16	14
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ), mg/kg	0,082	0,610	0,830	0,083	0,830
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,008	0,053	0,059	0,005	0,05
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	10,0	9,0	7,1	6,1	16,1
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,023	0,148	0,166	0,014	0,142
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,02	0,19	0,27	0,018	0,08
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	126	31	32	21	10
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,058	0,530	0,740	0,049	0,220
Chỉ số Horrat ( $H_{or}$ )	1,12	1,80	1,94	0,90	0,61

**Bảng A.5 – Dữ liệu về độ chụm Methomyl**

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	14	14	14	14	14
Số lượng phòng thử nghiệm	7	7	7	7	7
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	7	7	6	6	7
Số lượng ngoại lệ	0	0	1	1	0
Số kết quả được chấp nhận	14	14	12	12	14
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ), mg/kg	0,094	0,710	0,910	0,088	0,860
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,005	0,030	0,027	0,003	0,090
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	5,6	4,3	3,0	3,0	11,0
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,015	0,085	0,076	0,007	0,250
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,019	0,10	0,15	0,006	0,090
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	20	15	17	6,2	11
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,053	0,290	0,420	0,0153	0,250
Chỉ số Horrat ( $H_{or}$ )	0,88	0,89	1,05	0,27	0,67

**Bảng A.6 – Dữ liệu về độ chụm đối với Oxamyl**

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	14	14	14	14	14
Số lượng phòng thử nghiệm	7	7	7	7	7
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	7	7	7	6	7
Số lượng ngoại lệ	0	0	0	1	0
Số kết quả được chấp nhận	14	14	14	12	14
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ), mg/kg	0,090	0,680	0,840	0,080	0,820
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,006	0,048	0,062	0,003	0,100
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	6,5	7,0	7,4	3,1	12,0
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,016	0,133	0,175	0,007	0,280
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,022	0,150	0,140	0,008	0,100
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	25	22	16	10	12
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,062	0,410	0,380	0,022	0,280
Chỉ số Horrat ( $H_{OR}$ )	1,09	1,29	0,98	0,43	0,73

**Bảng A.7 – Dữ liệu về độ chụm**

Mẫu	Ớt xanh	Ớt xanh	Ớt xanh	Táo	Táo
Năm tiến hành thử nghiệm	1998	1998	1998	1998	1998
Số lượng mẫu thử	16	16	16	16	16
Số lượng phòng thử nghiệm	8	8	8	8	6
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	8	8	8	6	8
Số lượng ngoại lệ	0	0	0	2	0
Số kết quả được chấp nhận	16	16	16	12	16
Giá trị trung bình ( $\bar{x}$ ), mg/kg	0,100	0,740	0,890	0,092	0,880
Độ lệch chuẩn lặp lại, $s_r$ , mg/kg	0,010	0,038	0,080	0,002	0,090
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, $RSD_r$ , %	10,0	5,1	10,0	2,4	11,0
Giới hạn lặp lại $r$ , ( $r = 2,8 \times s_r$ ), mg/kg	0,027	0,107	0,240	0,006	0,270
Độ lệch chuẩn tái lập, $s_R$ , mg/kg	0,023	0,180	0,200	0,009	0,130
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, $RSD_R$ , %	23	24	23	9	14
Giới hạn tái lập $R$ , ( $R = 2,8 \times s_R$ ) mg/kg	0,064	0,500	0,570	0,0239	0,360
Chỉ số Horrat ( $H_{OR}$ )	1,02	1,44	1,41	0,39	0,86

## Phụ lục B

(Tham khảo)

### Các điều kiện vận hành thay thế của HPLC

Việc tách N-methylcacbamat cũng có thể được thực hiện với các điều kiện vận hành sau đây:

Cột phân tích: dài 150 mm, đường kính trong 4,6 mm; được nhồi bằng Inertsil® ODS-80A<sup>2</sup> (5 µm).

Cột bảo vệ: dài 10 mm, đường kính trong 4,0 mm; được nhồi bằng Inertsil® ODS-2<sup>2</sup> (5 µm).

Pha động D: axetonitril (4.8).

Pha động E: axetonitril/dung dịch natri axetat ngậm ba phân tử nước [ $c(\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 161 \text{ mg/l}$ ] 10/90 (thể tích).

Áp dụng chương trình gradient hai yếu tố, ở tốc độ 0,85 ml/min.

Tuyến tính từ 0 % của pha động D (nghĩa là 100 % pha động E) đến 56 % pha động D trong 20 min, sau đó tuyến tính đến 78 % pha động D trong 1 min và cuối cùng 78 % pha động D trong 5 min.

Cách khác, có thể sử dụng dung dịch natri hydroxit để thủy phân N-methylcarbamat, xem [2] và [5]. Để rửa giải từ cột phân tích HPLC, thêm dung dịch natri hydroxit (0,05 mol/l) với tốc độ dòng 0,5 ml/min trong cuộn phản ứng trong bộ phản ứng cột ở nhiệt độ 100 °C. Cho thuốc thử OPA (4.19) vào dòng ra của cuộn phản ứng với tốc độ 0,1 ml/min qua chi tiết chữ T thể tích chết thấp.

CHÚ THÍCH Hệ thống sắc ký lỏng sau cột hoàn chỉnh để phân tích dư lượng N-methylcarbamat có bán sẵn.

<sup>2</sup> Inertsil® là tên thương mại của sản phẩm do GL-Science, Tokyo, Japan cung cấp. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này còn CEN không ấn định sử dụng sản phẩm này. Có thể được sử dụng các sản phẩm khác nếu cho kết quả tương tự.

---

<sup>1)</sup> ISO 5725 : 1986 nay đã hủy.