

TCVN :2020

Soát xét lần 1

**NÔNG SẢN CÓ NGUỒN GỐC THỰC VẬT - XÁC ĐỊNH
ĐA DƯ LƯỢNG THUỐC BẢO VỆ THỰC VẬT SỬ DỤNG
SẮC KÝ KHÍ VÀ SẮC KÝ LỎNG SAU KHI XỬ LÝ MẪU
BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUECHERS**

*Agricultural products of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide
residues using GC - and LC - based analysis following preparation sample
by QuEChERS - method*

Lời nói đầu

TCVN 12848:2020 do Cục Bảo vệ thực vật biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Nông sản có nguồn gốc thực vật - Xác định đa dư lượng thuốc bảo vệ thực vật sử dụng sắc ký khí và sắc ký lỏng sau khi xử lý mẫu bằng phương pháp QuEChERS

Agricultural products of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC - and LC - based analysis following preparation sample by QuEChERS - method

CẢNH BÁO - Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, vận hành và thiết bị nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không yêu cầu giải quyết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng nó. Người sử dụng tiêu chuẩn này có trách nhiệm thiết lập các thực hành an toàn và sức khỏe phù hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các phương pháp phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) trong nông sản có nguồn gốc thực vật bằng kỹ thuật sắc ký khí (GC) và sắc ký lỏng (LC), kết hợp với các hệ thống đầu dò hiện đại như: khối phổ (MS hoặc MS/MS), khối phổ phân giải cao (HR-MS), đầu dò bắt điện tử (ECD), đầu dò quang hóa ngọn lửa (FPD), và các dạng khối phổ khác như ITD và TOF.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là 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.

CEN/TS 17061:2017 *Foodstuffs-Guidelines for the calibration and quantitative determination of pesticide residues and organic contaminants using chromatographic methods (Thực phẩm-Hướng dẫn đường chuẩn và định lượng dư lượng thuốc BVTV và những chất ô nhiễm hữu cơ bằng phương pháp sắc ký)*.

3 Nguyên tắc

Mẫu đã đồng nhất được chiết bằng acetonitril. Đối với các mẫu có hàm lượng nước thấp (dưới 80%), cần bổ sung nước để đạt tổng lượng nước khoảng 10 g. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat, hỗn hợp được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Một phần của pha hữu cơ

được làm sạch thông qua kỹ thuật chiết phân tán pha rắn (d-SPE), sử dụng các chất hấp phụ phù hợp kết hợp với magiê sulfat khan để loại bỏ nước còn lại. Các chất hấp phụ có thể sử dụng như chất hấp phụ amin (PSA), graphit carbon (GCB), hoặc octadecylsilan (C18). Sau đó, dịch chiết được axit hóa bằng một lượng nhỏ axit formic nhằm tăng độ ổn định cho các hợp chất bảo vệ thực vật nhạy với môi trường bazơ. Dịch chiết cuối cùng được phân tích trực tiếp bằng phương pháp sắc ký khí (GC) hoặc sắc ký lỏng (LC). Đối với GC, các đầu dò phù hợp bao gồm khối phổ chọn lọc (MS hoặc MS/MS), khối phổ phân giải cao (HR-MS), quang hóa ngọn lửa (FPD) và bắt điện tử (ECD). Đối với LC, đầu dò khối phổ hai lần (MS/MS) hoặc khối phổ phân giải cao (HR-MS) là đặc biệt phù hợp. Định lượng bằng phương pháp nội chuẩn, dung dịch nội chuẩn được thêm vào phần mẫu thử trước bước chiết đầu tiên, nhưng điều này không bắt buộc. Chi tiết về đường chuẩn xem trong CEN/TS 17061.

4 Chuẩn bị và bảo quản mẫu thử

4.1 Yêu cầu chung

Quy trình xử lý và bảo quản mẫu không được làm ảnh hưởng đến dư lượng thuốc BVTV có trong mẫu thử (còn được gọi là mẫu phân tích). Quy trình xử lý mẫu cần đảm bảo mẫu thử đồng nhất. Nếu một phần mẫu thử không đại diện cho mẫu phân tích thì phải dùng phần mẫu thử lớn hơn hoặc các mẫu lặp lại để thu được kết quả đúng. Việc nghiền nhỏ mẫu sẽ chiết được dư lượng tốt hơn.

4.2 Mẫu phòng thử nghiệm

Khi mẫu đã bị hỏng không thực hiện phân tích. Nên tiến hành chuẩn bị mẫu ngay khi phòng thử nghiệm nhận được, trước khi có sự thay đổi đáng kể về lý hóa. Nếu không thể chuẩn bị mẫu ngay thì phải bảo quản mẫu trong các điều kiện thích hợp để giữ được độ tươi của mẫu và tránh suy giảm chất lượng. Mẫu đã sấy hoặc đã xử lý tương tự cần được phân tích trong thời hạn sử dụng đã công bố.

4.3 Mẫu thử được xử lý sơ bộ

Để chuẩn bị mẫu thử, chỉ lấy phần mẫu phòng thử nghiệm (PTN) áp dụng mức dư lượng tối đa. Có thể loại bỏ các phần còn lại của mẫu.

Việc rút gọn mẫu PTN phải thực hiện sao cho thu được phần mẫu đại diện (ví dụ: chia bốn và chọn những phần chéo đối diện nhau). Nếu mẫu là các đơn vị nhỏ (ví dụ: những loại quả nhỏ, đậu đỗ, ngũ cốc,...) phải trộn đều mẫu trước khi cân phần mẫu thử. Nếu mẫu là các đơn vị lớn hơn lấy các phần hình rẽ quạt (ví dụ: dưa hấu) hoặc là những phần cắt ngang (ví dụ: dưa chuột) gồm cả lớp vỏ từ mỗi đơn vị mẫu ^[1].

4.4 Mẫu thử

Từ mỗi mẫu thử đã xử lý sơ bộ, loại ra các phần khó đồng nhất (ví dụ: đối với quả hạch cần loại bỏ hạt cứng) để thu được phần mẫu thử. Ghi lại khối lượng phần mẫu đã loại ra. Cần chú ý để tránh hao hụt

phần thịt hoặc phần nước. Tính dư lượng theo khối lượng ban đầu của mẫu thử (bao gồm cả hạt).

Nếu mẫu khó đồng nhất hoặc khó chiết dư lượng thuốc BVTV do kích thước mẫu lớn nên nghiền nhỏ mẫu bằng biện pháp thích hợp. Thực hiện ở nhiệt độ phòng nếu sự tách phần thịt và phần nước hoặc sự suy giảm thuốc BVTV xảy ra không đáng kể. Nghiền mẫu ở trạng thái đông lạnh làm giảm đáng kể sự thất thoát các chất phân tích không ổn định về tính chất hóa học, thường cho cỡ hạt nhỏ và đạt được độ đồng đều cao. Cắt thô mẫu (ví dụ: 3 cm x 3 cm) và đặt vào tủ đông (ví dụ: để qua đêm ở nhiệt độ âm 18 °C) trước khi nghiền. Quá trình xử lý cũng có thể tốt hơn và hiệu quả hơn bằng cách nghiền đông lạnh (dùng đá khô hoặc nitơ lỏng) giữ ở nhiệt độ dưới 0 °C. Đặc biệt đối với rau và quả có vỏ mỏng (ví dụ: cà chua, nho), việc nghiền đông lạnh thường cho sản phẩm nghiền đồng nhất hơn so với khi nghiền ở nhiệt độ thường. Khi mẫu thử được xử lý ở nhiệt độ thấp, cần tránh sự ngưng tụ do độ ẩm cao. Lượng cacbon dioxit còn dư cần được phân tán sao cho lượng có trong mẫu là không đáng kể.

4.5 Phần mẫu thử

Từ mẫu thử đã nghiền lấy ra các phần mẫu thử riêng lẻ đủ cho một phép phân tích. Các phần mẫu thử này cần được phân tích ngay. Nếu không được phân tích ngay thì bảo quản đông lạnh mẫu thử. Lưu ý rằng nếu sự đồng nhất của mẫu không đảm bảo trong quá trình bảo quản, mẫu thử nên được trộn đều trước khi lấy phần mẫu thử để đảm bảo tính đồng nhất.

5 Cách tiến hành

Quá trình chiết mẫu được chỉ rõ qua các quy trình từ E1 đến E9. Quá trình chiết thường được theo sau bởi quá trình làm sạch dịch chiết thô đã thu được dùng quy trình từ C1 đến C5. Bước làm sạch có thể được bỏ qua nếu ảnh hưởng của nền mẫu trong quá trình phân tích bằng các phương pháp sắc ký được diễn tả trong các quy trình từ D1 đến D6 không rõ ràng. Trong một số trường hợp, làm sạch có thể được thay thế bằng cách pha loãng dịch chiết thô (quy trình C0). Trước khi xác định thường ổn định dịch chiết (quy trình S1). Tất cả quy trình được mô tả chi tiết trong Phụ lục A. Những thông tin bổ sung được nêu trong Phụ lục B.

Bảng 1 đến Bảng 4 mô tả ngắn gọn các quy trình cũng như những ghi chú ứng dụng và những ví dụ sử dụng. Việc tính toán nồng độ dư lượng trong dịch chiết mẫu, đường chuẩn và phương pháp định lượng được mô tả trong các mục từ Q1 đến Q7 (Bảng 5). Kết hợp những quy trình liên quan đến chiết mẫu và làm sạch dịch chiết thô được nêu trong Bảng 6 cho rất nhiều loại thực phẩm (thô và chế biến).

Bảng 1 - Chiết mẫu (E)

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
Chiết không thủy phân			
E1	10 g phần mẫu thử không thêm nước được chiết với axetonitril	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm lượng nước cao (lớn hơn hoặc bằng 80 %)	Rau quả, nước ép
E2	10 g phần mẫu thử được chiết với 10 ml axetonitril sau khi thêm 0,6 ml hoặc 0,2 ml dung dịch sodium hydroxit	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm lượng nước cao (lớn hơn hoặc bằng 80 %) và hàm lượng axit cao	(a) chanh, nho đỏ (b) quả mâm xôi
E3	10 g phần mẫu thử được thêm 2,5 ml nước hoặc 4,5 ml nước sau đó được chiết với axetonitril	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm lượng nước trung bình (lớn hơn 40 % và nhỏ hơn 80 %)	(a) chuối, rau ăn củ (khoai tây, khoai mỡ,...) (b) bánh mì, chà là tươi, hạt dẻ
E4	Mẫu thử được đồng nhất với nước và 13,5 g phần mẫu thử được chiết với axetonitril	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm lượng nước thấp (15 % đến 40 %)	Quả sấy khô và những thực phẩm tương tự
E5	5 g phần mẫu thử được thêm 10 ml nước sau đó được chiết với axetonitril	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm lượng nước thấp (nhỏ hơn 15 %) và mật ong	Ngũ cốc, sản phẩm ngũ cốc và mật ong
E6	5 g phần mẫu thử được thêm 6 ml nước sau đó được chiết với axetonitril	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm lượng nước trung bình (lớn hơn 40 % đến 80 %) và phần mẫu nhiều hoặc hàm lượng dầu cao (lớn hơn 5 %)	Tỏi, quả bơ
E7	2 g phần mẫu thử được thêm 10 ml nước sau đó	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa hàm	Gia vị, cà phê, thuốc lá, chè, đậu lăng, quả đông

Bảng 1 (kết thúc)

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
	được chiết với axetonitril	lượng nước thấp (nhỏ hơn 15 %) và phần mẫu nhiều cũng như sản phẩm đông khô	khô
Chiết và thủy phân			
E8	Thủy phân ester và liên hợp của thuốc BVTX axit trong hỗn hợp 10 g mẫu trong axetonitril sau đó chiết với axetonitril (đề xuất tham khảo phương pháp thử cho thủy phân kiềm)	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm với pH trung tính hoặc axit và hàm lượng nước cao (lớn hơn hoặc bằng 80 %)	Rau quả, nước ép, chanh
E9	Thủy phân ester và liên hợp của thuốc BVTX axit trong hỗn hợp 2 g đến 5 g mẫu trong axetonitril sau đó chiết với axetonitril (đề xuất tham khảo phương pháp thử cho thủy phân kiềm)	Nguyên liệu thực vật và thực phẩm với hàm lượng nước thấp	Ngũ cốc và sản phẩm ngũ cốc, tỏi, gia vị, cà phê, thuốc lá, chè, đậu lăng, quả đông khô

Bảng 2 - Làm sạch

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
C0	Không làm sạch	Những thuốc BVTX nhạy với bazơ và có tính axit (pK_a nhỏ hơn 5) tương tác với chất hấp phụ amin (PSA) được sử dụng trong quy trình từ C2 đến C5, phân tích dịch chiết với phần mẫu ít.	Dưa leo, táo, dịch chiết thô được pha loãng đủ.
C1	Đông lạnh	Loại chất béo cộng chiết (ngay cả khi kết hợp với các	Cam, chanh, ngũ cốc

Bảng 2 (kết thúc)

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
		bước làm sạch tiếp theo, ví dụ: C2, C3, C5)	
C2	Chiết phân tán pha rắn với chất hấp phụ amin (PSA)	Làm sạch dịch chiết thô trước khi xác định thuốc BVTV bazơ và trung tính	Quy trình chuẩn cho bất kỳ thực phẩm nào không được nêu riêng
C3	Chiết phân tán pha rắn với lượng chất hấp phụ amin (PSA) lớn hơn	Làm sạch dịch chiết thô của thực phẩm có nguồn gốc thực vật với phần mẫu nhiều trước khi xác định thuốc BVTV bazơ và trung tính	Dịch chiết thô từ quy trình E5 (ví dụ: ngũ cốc và sản phẩm ngũ cốc) và E7 (ví dụ: cà phê, chè, thảo mộc khô, gia vị)
C4	Chiết phân tán pha rắn với hỗn hợp chất hấp phụ amin và chất hấp phụ pha đảo trên nền silica (PSA/ODS)	Đồng thời làm sạch dịch chiết thô và loại chất béo cộng chiết	Quả có múi, ngũ cốc và sản phẩm ngũ cốc, quả bơ, oliu
C5	Chiết phân tán pha rắn với hỗn hợp chất hấp phụ amin và graphit carbon (PSA/GCB)	Làm sạch dịch chiết thô có màu đậm trước khi xác định thuốc BVTV bazơ và trung tính	Rau xà lách, rau diếp,...

Bảng 3 - Ổn định dịch chiết (S)

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
S0	Không ổn định dịch chiết	Những chất phân tích dễ phân hủy bởi axit	Flazasulfurone, Mesosulfurone, Tribenurone, Triflusulfurone
S1	Ổn định dịch chiết với axit formic	Những chất phân tích phân hủy bởi bazơ và ổn định với axit	Đa số chất phân tích

Bảng 4 - Phát hiện (D)

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
D1	LC-MS/MS	Dịch chiết từ quy trình E1 đến E9 sau đó làm sạch với quy trình từ C0 đến C5	Chất phân tích trong dịch chiết của các thực phẩm có khả năng bị ion hóa bởi các phương pháp ESI/APCI
D2	LC-HR-MS	Dịch chiết từ quy trình E1 đến E9 sau đó làm sạch với quy trình từ C0 đến C5	Chất phân tích trong dịch chiết của các thực phẩm có khả năng bị ion hóa bởi các phương pháp ESI/APCI
D3	GC-MS/MS	Dịch chiết từ quy trình E1 đến E7 sau đó làm sạch với quy trình từ C0 đến C5	Chất phân tích trong dịch chiết của các thực phẩm có khả năng bị ion hóa bởi các phương pháp EI/PCI/NCI
D4	GC-MS (bao gồm ITD và TOF)	Dịch chiết từ quy trình E1 đến E7 sau đó làm sạch với quy trình từ C0 đến C5	Chất phân tích trong dịch chiết của các thực phẩm có khả năng bị ion hóa bởi các phương pháp EI/PCI/NCI
D5	GC-FPD	Dịch chiết từ quy trình E1 đến E7 sau đó làm sạch với quy trình từ C0 đến C5	Hợp chất lân hữu cơ và hợp chất chứa lưu huỳnh
D6	GC-ECD	Dịch chiết từ quy trình E1 đến E7 sau đó làm sạch với quy trình từ C0 đến C5	Hợp chất chlor hữu cơ

Xác định bằng sắc ký khí với detector khối phổ một lần (mode SIM), detector bẫy ion và thời gian bay (không phụ thuộc vào độ phân giải MS) thích hợp cho tất cả các chất phân tích. Phân tích GC-MS không làm sạch chỉ khi dịch chiết đã pha loãng (quy trình C0).

Bảng 5 - Định lượng

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
Q1	Định lượng dùng ngoại chuẩn trong dung môi	Xác định khi ảnh hưởng của nền mẫu không đáng kể	Xem CEN/TS 17061:2017, từ 4.4.2 đến 4.4.5
Q2	Định lượng dùng ngoại chuẩn trong nền mẫu	Xác định khi ảnh hưởng của nền mẫu đáng kể	Xem CEN/TS 17061:2017, 4.3 và từ 4.4.2 đến 4.4.5

Bảng 5 (kết thúc)

Quy trình	Mô tả	Ứng dụng	Ví dụ
Q3	Định lượng bằng cách sử dụng nội chuẩn và chuẩn trong dung môi	Xác định khi ảnh hưởng của nền mẫu không đáng kể	Xem CEN/TS 17061:2017, 4.5.2
Q4	Định lượng dùng phương pháp thêm chuẩn vào dịch chiết sau cùng	Xác định khi ảnh hưởng của nền mẫu đáng kể và không có mẫu trắng phù hợp	Xem CEN/TS 17061:2017, 4.6.2
Q5	Định lượng bằng cách sử dụng nội chuẩn và chuẩn trong nền mẫu hoặc nội chuẩn đồng vị	Xác định khi ảnh hưởng của nền mẫu đáng kể để bù vào hiệu suất thu hồi thấp	Xem CEN/TS 17061:2017, 4.3, 4.5.2 và 4.5.3
Q6	Định lượng dùng phương pháp thêm chuẩn vào mẫu	Xác định khi ảnh hưởng nền mẫu đáng kể mà không có sẵn mẫu trắng (mẫu kiểm soát) hoặc quá trình chiết chất phân tích không hoàn toàn.	Xem CEN/TS 17061:2017, 4.6.3
Q7	Định lượng bằng đường chuẩn	Xác định khi ảnh hưởng nền mẫu đáng kể hoặc quá trình chiết chất phân tích không hoàn toàn.	Xem CEN/TS 17061:2017, 4.7

Bảng 6 - Kết hợp của chiết và làm sạch của một số thực phẩm cụ thể

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Nước táo	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Bột táo nghiền	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Táo	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Táo khô	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Mơ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Mơ khô	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Nước mơ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Măng tây	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Cà tím	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả bơ	E6	5 g / 6 ml	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	C4	PSA 25 và C18 25
Chuối	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Chuối, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Húng quế	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Đậu hạt tươi	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Đậu khô	E5	5 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Củ cải đường	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Mâm xôi	E2b	10 g / NaOH 2	C2	PSA 25	—	—
Mâm xôi, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C3a	PSA 50
Việt quất	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Việt quất, khô (14 % nước)	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Việt quất, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C3a	PSA 50
Bánh mì (34 % đến 43 % nước)	E3b	10 g / 4,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Mít (70 % nước)	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Bông cải xanh	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cà rốt	E1	10 g / 0 ml	C5a	PSA 25 và GCB 2,5	—	—
Cà rốt, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C5a	PSA 25 và GCB 2,5
Súp lơ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Cần tây/ Rễ cần tây	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	C5a	PSA 25 và GCB 2,5
Cần tây	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cần tây, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C5b	PSA 25 và GCB 7,5
Bột ngũ cốc	E5	5 g / 10 ml	C1 và C3a	Đông lạnh và PSA 50	C4	PSA 25 và C18 25
Hạt ngũ cốc	E5	5 g / 10 ml	C1 và C3a	Đông lạnh và PSA 50	C4	PSA 25 và C18 25
Ngũ cốc ngũ cốc	E5	5 g / 10 ml	C1 và C3a	Đông lạnh và PSA 50	C4	PSA 25 và C18 25
Ngũ cốc mảnh	E5	5 g / 10 ml	C1 và C3a	Đông lạnh và PSA 50	C4	PSA 25 và C18 25
Anh đào	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Hạt dẻ (45 % đến 52 % nước)	E3b	10 g / 4,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Cải bắp Trung Quốc	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Hẹ	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Hẹ, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C5b	PSA 25 và GCB 7,5
Dừa, tươi	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Hạt cà phê	E7	2 g / 10 ml	C3b	PSA 75	—	—

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Rau mùi	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Ngô, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Ngô, tươi	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Bí xanh	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cải xoong	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Dưa chuột	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Phúc bồn tử	E2a	10 g / NaOH 1	C2	PSA 25	—	—
Phúc bồn tử, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Nước ép phúc bồn tử	E2a	10 g / NaOH 1	C2	PSA 25	—	—
Chà là, sấy khô	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Chà là, tươi (50 % đến 60 % nước)	E3b	10 g / 4,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả sầu riêng	E6	5 g / 6 ml	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	C4	PSA 25 và C18 25
Rau diếp	E1	10 g / 0 ml	C5a	PSA 25 và GCB 2,5	—	—
Quả sung, sấy khô	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Nấm trồng	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Nấm, sấy khô	E5	5 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Tỏi (59 % nước)	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Gừng (79 % nước)	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Hạt bạch quả (55 % nước)	E3b	10 g / 4,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Atisô	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Phúc bồn tử	E2b	10 g / NaOH 2	C2	PSA 25	—	—

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Lá nho	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Lá nho	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Bưởi	E1	10 g / 0 ml	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	—	—
Nho	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Họ bắp cải	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Xà lách	E1	10 g / 0 ml	C5a	PSA 25 và GCB 2,5	—	—
Mật ong	E5	5 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Dưa ngọt	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cải ngựa	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Mít (74 % nước)	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Cải xoăn	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Quả kiwi	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cải củ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Rau diếp cừu	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Tỏi tây	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Tỏi tây, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Sả, tươi (71 % nước)	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Nước chanh	E2a	10 g / NaOH 1	C2	PSA 25	—	—
Chanh	E2a	10 g / NaOH 1	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	—	—
Đậu lăng, sấy khô	E5	5 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Nước ép chanh	E2a	10 g / NaOH 1	C2	PSA 25	—	—
Chanh	E2a	10 g / NaOH 1	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	—	—
Củ sen (79 % nước)	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Hạt sen	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Hạt sen, sấy khô (14 % nước)	E5	5 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Quýt	E1	10 g / 0 ml	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	—	—
Quả xoài	E1	10 g / 0 ml	C5a	PSA 25 và GCB 2,5	—	—
Xoài, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C5b	PSA 25 và GCB 7,5
Quả mận vàng	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Mật hoa	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả ô liu	E6	5 g / 6 ml	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	C4	PSA 25 và C18 25
Hành	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Những quả cam	E1	10 g / 0 ml	C1 và C2	Đông lạnh và PSA 25	—	—
Đu đủ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Mùi tây	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Rau mùi tây	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả đào	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Đào, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả lê	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Đậu Hà Lan, sấy khô	E5	5 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Đậu Hà Lan, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Hạt tiêu, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C5b	PSA 25 và GCB 7,5

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Tiêu, xanh, vàng	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Tiêu, đỏ	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Bạc hà, tươi	E3a	10 g / 2,5 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Bạc hà, tươi (78 % nước)	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Dứa	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Dứa, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Chuối	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Mận	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Mận, sấy khô	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Khoai tây	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Khoai tây	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Bí ngô	E1	10 g / 0 ml	C5a	PSA 25 và GCB 2,5	—	—
Quả mọng quả	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Củ cải	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Nho khô	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả mâm xôi	E2b	10 g / NaOH 2	C2	PSA 25	—	—
Bắp cải đỏ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cây đại hoàng	E2b	10 g / NaOH 2	C2	PSA 25	—	—
Nước đại hoàng	E2b	10 g / NaOH 2	C2	PSA 25	—	—
Xà lách Rocket	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Rau diếp lá dài	E1	10 g / 0 ml	C5a	PSA 25 và GCB 2,5	—	—
Hương thảo (68 % nước)	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Hương thảo, tươi	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—

Bảng 6 (tiếp theo)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Cây xô thơm, tươi	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Cây xô thơm, tươi	E3a	10 g / 2,5 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Cây củ hạ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Bắp cải xoăn	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Hẹ	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Hẹ, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Bạc hà	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Gia vị	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	—	—
Rau bina	E1	10 g / 0 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Dâu tây	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Dâu tây, đông khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C3a	PSA 50
Khoai lang	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Quả me (31 % nước)	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Khoai môn	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Chè	E7	2 g / 10 ml	C3b	PSA 75	—	—
Húng tây, sấy khô	E7	2 g / 10 ml	C2	PSA 25	C5b	PSA 25 và GCB 7,5
Húng tây, tươi	E3a	10 g / 2,5 ml	C5b	PSA 25 và GCB 7,5	—	—
Húng tây, tươi (65 % nước)	E6	5 g / 6 ml	C2	PSA 25	—	—
Cà chua	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Cà chua, sấy khô (14,5 % nước)	E4	500 g / 850 ml	C2	PSA 25	—	—
Rau	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Đậu tằm (có vỏ quả)	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—

Bảng 6 (kết thúc)

Thực phẩm	Chiết (E)	Mô tả (E) ^a	Làm sạch (C)	Mô tả (C) ^b	Làm sạch (thay thế C)	Mô tả (thay thế C) ^b
Mầm lúa mì (47 % nước)	E3b	10 g / 4,5 ml	C2	PSA 25	—	—
Rượu vang	E1	10 g / 0 ml	C2	PSA 25	—	—
Củ mỡ	E3a	10 g / 2,5 ml	C2	PSA 25	—	—
CHÚ THÍCH a Thể tích tính bằng ml có nghĩa là nước thêm vào; NaOH 1 có nghĩa là thêm 0,6 ml dung dịch NaOH 5 mol/l; NaOH 2 có nghĩa là thêm 0,2 ml dung dịch NaOH 5 mol/l b Các con số đề cập đến khối lượng tính bằng mg của PSA (Chất hấp thụ amin bậc 1 và bậc 2) và / hoặc GCB (Than đen than chì) trên mỗi ml dịch chiết						

6 Đánh giá kết quả

6.1 Định tính và định lượng

Các thông số xác định sự có mặt của chất phân tích trong dịch chiết mẫu, bao gồm:

- Thời gian lưu của chất phân tích (R_t) hoặc tỉ lệ thời gian lưu với chất nội chuẩn ($R_{t(A)}/R_{t(ISTD)}$) thu được cùng một lần chạy;
- Trường hợp phát hiện bằng MS hoặc MS-MS, cường độ tương đối lần lượt của mảnh khối hoặc bước chuyển thường được ghi nhận (nhìn chung yêu cầu 2 bước chuyển SRM trong MS/MS và 3 ion trong MS), xem thêm [3], [4], [5];
- Hình dạng pic của chất phân tích.

Các thông số thu được của chất phân tích cần xác định trong dịch chiết mẫu được so sánh với những thông số thu được của thuốc BVTV trong dung dịch chuẩn. Để tăng mức độ khẳng định của chất phân tích, các phép đo khác có thể cần thiết như sử dụng điều kiện tách sắc ký khác hoặc đánh giá thêm m/z hoặc bước chuyển SRM. Để biết thêm thông tin về tiêu chuẩn xác nhận (ví dụ: độ lệch tối đa cho phép đối với tỉ lệ ion dùng những kỹ thuật MS khác nhau) xem hướng dẫn kiểm soát chất lượng EU được nêu trong tài liệu SANTE/11813/2017 ^[6]. Bảng A.1 đưa ra danh sách các chất nội chuẩn có thể sử dụng. Việc sử dụng nhiều hơn một nội chuẩn sẽ cung cấp một số thông tin dự phòng.

Sử dụng dung dịch chuẩn để kiểm tra độ tuyến tính và xác định phương trình đường chuẩn đối với từng chất phân tích. Việc dùng dung dịch chuẩn phù hợp nền mẫu sẽ được ưu tiên. Tuy nhiên, khi ước tính mức dư lượng của thuốc BVTV trong thực phẩm hoặc cho thấy không có sự hiện diện của

chúng thì dung dịch chuẩn trong dung môi có thể được sử dụng. Dung dịch chuẩn trong dung môi cũng được sử dụng để định lượng nếu các thực nghiệm ban đầu cho thấy mọi hiệu ứng tăng hoặc giảm không có bất kỳ ảnh hưởng nào đáng kể đến kết quả thu được. Ngay khi phát hiện được các nồng độ dư lượng có liên quan (ví dụ, nghi ngờ vượt quá MRL), tốt nhất là sử dụng phép xác định chính xác hơn như: dùng chuẩn trong nền mẫu hoặc phương pháp thêm chuẩn.

CHÚ THÍCH: Hiệu ứng nền ảnh hưởng đến sự đáp ứng của các chất phân tích trong dịch chiết mẫu được so sánh với sự đáp ứng của dung dịch chuẩn trong dung môi tinh khiết.

Khoảng đường chuẩn nên phù hợp với các nồng độ dư lượng cần định lượng. Do đó, có thể cần phải xây dựng nhiều đường chuẩn từ các kết quả đo.

Tiêu chuẩn này bao gồm việc tùy chọn sử dụng chất chuẩn nội (ISTD) để định tính và định lượng. Tuy nhiên vẫn có thể định lượng không sử dụng ISTD. Khi không sử dụng ISTD, thể tích của pha axetonitril chính là thể tích của axetonitril được thêm vào trong mẫu (10 ml).

6.2 Hiệu chuẩn

Phương pháp phân tích được hiệu chuẩn theo CEN/TS 17061 hoặc hướng dẫn kiểm soát chất lượng của EU được nêu trong SANTE/11813/2017 [6]. Một quy trình hiệu chuẩn thích hợp nên được chọn từ một trong các tùy chọn định lượng Q1 đến Q7 trong A.7.

6.3 Tính toán nồng độ dư lượng

Phần khối lượng w_A của mỗi chất phân tích phụ thuộc vào nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết sau cùng $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ sau khi làm sạch (quy trình C0 đến C5) và nồng độ của chất trong dịch chiết này ρ_A (xác định theo một trong các tùy chọn từ Q1 đến Q7 được nêu trong A.7). Diễn tả bằng mg/kg và được tính theo công thức (1).

$$w_A = \frac{\rho_A}{\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}}$$

Với:

ρ_A : nồng độ khối lượng của chất phân tích trong dịch chiết mẫu (tùy chọn Q, xem A.7.1.3, A.7.2.3, A.7.3.3 và A.7.5.3), $\mu\text{g/ml}$;

$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$: nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết sau cùng (quy trình C, xem A.4.1.3, A.4.2.3, A.4.3.3,...), g/ml .

6.4 Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

Hiệu suất thu hồi thu được từ các thử nghiệm (các mức thêm chuẩn 0,01 mg/kg đến 0,25 mg/kg)

thường từ 70 % đến 110 %.

Các nghiên cứu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp liên phòng đã bao gồm nhiều chất phân tích trên các thực phẩm đại diện (thường là dưa chuột, chanh, bột mì và nho khô). Hơn nữa, việc xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp đã mở rộng ở nhiều phòng thí nghiệm. Tất cả dữ liệu đánh giá bởi những phòng thí nghiệm được xuất bản trong “Data Pool of the European Union Reference Laboratories” [7].

Hiệu lực của phương pháp được xác nhận cho bất kỳ sự kết hợp giữa loại thực phẩm và thuốc BVTV cụ thể nào nếu ít nhất hai phòng thí nghiệm tiến hành nghiên cứu đánh giá kiểm chứng độc lập với nền mẫu giống nhau ở 2 mức nồng độ giống nhau với ít nhất 5 lần lặp lại cho mỗi mức và thu được hiệu suất thu hồi từ 70 % đến 120 %. Độ lệch chuẩn phải nhỏ hơn hoặc bằng 20 % cho cả 2 mức thu hồi ở mỗi phòng thí nghiệm.

Bảng 7 đưa ra dữ liệu đánh giá được xác nhận của phương pháp cho những chất phân tích và nhóm thực phẩm đặc trưng.

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
1.	2,4-D	94-75-7	x	x	x	x
2.	Abamectin	71751-41-2	x	x	x	
3.	Acephate	30 560-19-1	x	x	x	x
4.	Acetamiprid	135 410-20-7	x	x	x	x
5.	Acetochlor	34256-82-1	x	x	x	x
6.	Acrinathrin	101 007-06-1	x	x	x	x
7.	Alachlor	15972-60-8	x	x	x	x
8.	Aldicarb	116-06-3	x	x	x	x
9.	Aldicarb sulfone	1646-88-4	x	x	x	x
10.	Aldicarb sulfoxide	1646-87-3	x	x	x	x
11.	Aldrin	309-00-2	x	x	x	x
12.	Ametoctradin	865318-97-4	x	x	x	x
13.	Ametryl	834-12-8	x	x	x	x
14.	Amisulbrom	348635-87-0	x	x	x	x
15.	Amitraz	33089-61-1	x	x	x	x
16.	Anilofos	64249-01-0	x	x	x	x
17.	Atrazine	1912-24-9	x	x	x	x
18.	Avermectin B1a	65 195-55-3	x	x	x	x
19.	Azadirachtin	11141-17-6	x	x	x	x
20.	Azinphos-methyl	86-50-0	x	x	x	x
21.	Azoxystrobin	131 860-33-8	x	x	x	x
22.	Benalaxyl	71 626-11-4	x	x	x	x
23.	Bensulfuron	99283-01-9	x	x	x	

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
24.	Bensulfuron methyl	83055-99-6	x	x	x	x
25.	Benzobicyclon	156963-66-5	x	x	x	
26.	Berberine	2086-83-1	x	x	x	
27.	Bifenthrin	82 657-04-3	x	x	x	x
28.	Biphenyl	92-52-4	x	x	x	x
29.	Bitertanol	70 585-36-3	x			
30.	Boscalid	188 425-85-6	x	x	x	x
31.	Bromopropylate	18 181-80-1	x	x	x	x
32.	Bromoxynil	1 689-84-5	x	x	x	x
33.	Bromuconazole	116 255-48-2	x	x	x	x
34.	Bupirimate	41 483-43-6	x	x	x	x
35.	Buprofezin	69 327-76-0	x	x	x	x
36.	Butachlor	23184-66-9	x	x	x	x
37.	Captan	133-06-2	x	x	x	x
38.	Carbaryl	63-25-2	x	x	x	x
39.	Carbendazim	10 605-21-7	x	x	x	x
40.	Carbofuran	1 563-66-2	x	x	x	x
41.	Carbofuran, 3-hydroxy-	16 655-82-6	x	x	x	x
42.	Carboxin	5 234-68-4	x	x	x	x
43.	Carpropamid	104030-54-8	x	x	x	x
44.	Carvacrol	499-75-2	x	x	x	x
45.	Chlorantraniliprole	500008-45-7	x	x	x	x
46.	Chlordane	57-74-9	x	x	x	x
47.	Chlorfenapyr	122 453-73-0	x	x	x	x
48.	Chlorfenvinphos	470-90-6	x			
49.	Chlorfluazuron	71422-67-8	x	x	x	x
50.	Chlorimuron ethyl	90982-32-4	x	x	x	x
51.	Chlorpropham	101-21-3	x			
52.	Chlorpyrifos (ethyl)	2 921-88-2	x	x		
53.	Chlorpyrifos-methyl	5 598-13-0	x	x	x	x
54.	Chlorthal-dimethyl	1 861-32-1	x	x	x	x
55.	Chromafenozide	143807-66-3	x	x	x	x
56.	Clofentezine	74 115-24-5	x	x	x	x
57.	Clomazone	81 777-89-1	x	x	x	x
58.	Clothianidin	210 880-92-5	x	x	x	x
59.	Cyantraniliprole	736994-63-1	x	x	x	x
60.	Cyazofamid	120 116-88-3	x	x	x	x
61.	Cyclaniliprole	1031756-98-5	x	x	x	
62.	Cyclosulfamuron	136849-15-5	x	x	x	x
63.	Cyetypyrafen	1253429-01-4	x	x	x	
64.	Cyflufenamid	180409-60-3	x	x	x	x
65.	Cyflumetofen	400882-07-7	x	x	x	x
66.	Cyfluthrin	68 359-37-5	x	x		
67.	Cyhalofop- butyl	122008-85-9	x	x	x	x

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
68.	Cyhalothrin, lambda-	91 465-08-6	x	x		
69.	Cymoxanil	57 966-95-7	x	x	x	x
70.	Cypermethrin	52 315-07-8	x	x		
71.	Cyproconazole	94 361-06-5	x	x	x	x
72.	Cyprodinil	121 552-61-2	x	x	x	x
73.	DDD, p,p-	72-54-8	x			
74.	DDE, p,p-	72-55-9	x			
75.	DDT	50-29-3	x	x	x	x
76.	DDT, o,p'	789-02-06	x	x	x	x
77.	DDT, p,p'	50-29-3	x	x	x	x
78.	Deltamethrin	52 918-63-5	x			
79.	Demeton-S-methyl sulphon	17 040-19-6	x	x	x	x
80.	Diazinon	333-41-5	x			
81.	Dichlorprop-P	15 165-67-0	x	x	x	x
82.	Dichlorvos	62-73-7	x	x	x	x
83.	Dicloran	99-30-9	x	x	x	x
84.	Dicofol	115-32-2	x	x	x	x
85.	Dicrotophos	3 735-78-3	x	x	x	x
86.	Dieldrin	60-57-1	x	x	x	x
87.	Diethofencarb	87 130-20-9	x	x	x	x
88.	Difenoconazole	119 446-68-3	x	x	x	x
89.	Diffubenzuron	35 367-38-5	x	x	x	
90.	Diffufenican	83164-33-4	x	x	x	x
91.	Dimethoate	60-51-5	x	x	x	x
92.	Dimethomorph	110 488-70-5	x	x	x	
93.	Diniconazole	83 657-24-3	x	x	x	x
94.	Dinotefuran	165252-70-0	x	x	x	x
95.	Diphenylamine	122-39-4	x	x		x
96.	Disulfoton	298-04-4	x	x	x	x
97.	Diuron	330-54-1	x	x	x	x
98.	Edifenphos	17109-49-8	x	x	x	x
99.	Emamectin benzoate	119791-41-2	x	x	x	x
100.	Endosulfan sulfate	1 031-07-8	x	x	x	x
101.	Endosulfan, alpha-	33 213-66-0	x	x	x	x
102.	Endosulfan, beta-	33 213-65-9	x	x	x	x
103.	Endrin	72-20-8	x	x	x	x
104.	Epoxiconazol	133 855-98-8	x	x	x	x
105.	Esfenvalerate	66230-04-4	x	x	x	
106.	Ethaboxam	162650-77-3	x	x	x	x
107.	Ethion	563-12-2	x	x	x	x
108.	Ethiprole	181587-01-9	x	x	x	x
109.	Ethofumesate	26 225-79-6	x	x	x	x
110.	Ethoprophos	13 194-48-4	x	x	x	x

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
111.	Ethoxysulfuron	126801-58-9	X	X	X	
112.	Etofenprox	80 844-07-1	X	X	X	X
113.	Etoazole	153233-91-1	X	X	X	X
114.	Etridiazol	2 593-15-9	X	X	X	X
115.	Famoxadone	131 807-57-3	X	X	X	X
116.	Fenamidone	161 326-34-7	X	X	X	X
117.	Fenamiphos	22224-92-6	X	X	X	X
118.	Fenamiphos sulfone	31972-44-8	X	X	X	X
119.	Fenamistrobin	366815-39-6	X	X	X	
120.	Fenarimol	60 168-88-9	X	X	X	X
121.	Fenazaquin	120 928-09-8	X	X	X	X
122.	Fenbuconazole	114 369-43-6	X	X	X	X
123.	Fenclorim	3740-92-9	X	X	X	
124.	Fenhexamid	126 833-17-8	X	X	X	X
125.	Fenitrothion	122-14-5	X	X	X	X
126.	Fenobucarb	3766-81-2	X	X	X	X
127.	Fenoxanil	115852-48-7	X	X	X	X
128.	Fenoxaprop-P Ethyl	71283-80-2	X	X	X	
129.	Fenoxycarb	79 127-80-3	X	X	X	X
130.	Fenpropathrin	64 257-84-7	X	X	X	X
131.	Fenpropidin	67 306-00-7	X	X	X	X
132.	Fenpropimorph	67 306-03-0	X	X	X	X
133.	Fenpyroximate	111 812-58-9	X	X	X	X
134.	Fenthion	55-38-9	X	X	X	X
135.	Fenvalerate	51 630-58-1	X	X	X	X
136.	Fipronil	120 068-37-3	X	X	X	X
137.	Fipronil sulfone	120068-36-2	X	X	X	X
138.	Flonicamid	158 062-67-0	X	X	X	X
139.	Fluazifop	69 335-91-7	X	X	X	X
140.	Fluazifop-P	83 066-88-0	X	X	X	X
141.	Fluazinam	79622-59-6	X	X	X	X
142.	Flucetosulfuron	412928-75-7	X	X	X	X
143.	Flucythrinate	70124-77-5	X	X	X	X
144.	Fludioxonil	131 341-86-1	X	X	X	X
145.	Flufenoxuron	101 463-69-8	X	X	X	X
146.	Fluometuron	2164-17-2	X	X	X	X
147.	Fluopicolid	239 110-15-7	X	X	X	X
148.	Fluopyram	658066-35-4	X	X	X	X
149.	Fluoxastrobin	361377-29-9	X	X	X	X
150.	Fluquinconazole	136 426-54-5	X			
151.	Flusilazole	85 509-19-9	X	X	X	X
152.	Flutolanil	66 332-96-5	X	X	X	X
153.	Flutriafol	76 674-21-0	X	X	X	X
154.	Fluvalinate	69 409-94-5	X			
155.	Fluxapyroxad	907204-31-3	X	X	X	
156.	Folpet	133-07-3	X	X	X	X

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
157.	Forchlorfenuron	68157-60-8	X	X	X	X
158.	Formetanate	22 259-30-9	X	X	X	X
159.	Fosthiazate	98886-44-3	X	X	X	X
160.	Fuberidazole	3878-19-1	X	X	X	X
161.	Halosulfuron methyl	100784-20-1	X	X	X	X
162.	Haloxypop-P	95 977-29-0	X	X	X	X
163.	HCH	608-73-1	X	X	X	X
164.	HCH, alpha	319-84-6	X	X	X	X
165.	HCH, beta	319-85-7	X	X	X	X
166.	HCH, gamma	58-89-9	X	X	X	X
167.	Heptachlor	76-44-8	X	X	X	X
168.	Hexachlorobenzene (HCB)	118-74-1	X			
169.	Hexaconazole	79 983-71-4	X	X	X	X
170.	Hexythiazox	78 587-05-0	X	X	X	X
171.	Imazalil	35 554-44-0	X	X	X	X
172.	Imazapic	104098-48-8	X	X	X	
173.	Imazapyr	81334-34-1	X	X	X	
174.	Imibenconazole	86598-92-7	X	X	X	X
175.	Imidacloprid	138 261-41-3	X	X	X	X
176.	Indaziflam	950782-86-2	X	X	X	X
177.	Indoxacarb	173 584-44-6	X	X	X	X
178.	Ipconazole	125225-28-7	X	X	X	X
179.	Iprobenfos	26087-47-8	X	X	X	X
180.	Iprodione	36 734-19-7	X	X	X	X
181.	Iprovalicarb	140 923-17-7	X	X	X	X
182.	Isofenphos-methyl	99 675-03-3	X	X	X	X
183.	Isoprocarb	2631-40-5	X	X	X	X
184.	Isoprothiolane	50512-35-1	X	X	X	X
185.	Isopyrazam	881685-58-1	X	X	X	
186.	Isoxaben	82558-50-7	X	X	X	X
187.	Isoxathion	18854-01-8	X	X	X	X
188.	Kresoxim-methyl	143 390-89-0	X	X		
189.	Lenacil	01-08-64	X	X	X	X
190.	Linuron	330-55-2	X	X	X	X
191.	Lufenuron	103 055-07-8	X	X		
192.	Malaoxon	1 634-78-2	X	X	X	X
193.	Malathion	121-75-5	X	X	X	X
194.	Mandipropamid	374 726-62-2	X	X	X	X
195.	Matrine	519-02-8	X	X	X	X
196.	MCPA	94-74-6	X	X	X	X
197.	Mepanipyrim	110 235-47-7	X	X	X	X
198.	Mesotrione	104206-82-8	X	X	X	
199.	Metaflumizone	139968-49-3	X	X	X	X
200.	Metalaxyl	57 837-19-1	X	X	X	X
201.	Metalaxyl-M	70630-17-0	X	X	X	X

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
202.	Metamitron	41 394-05-2	x	x	x	x
203.	Metazachlor	67129-08-2	x	x	x	x
204.	Metazosulfuron	868680-84-6	x	x	x	x
205.	Metconazole	125116-23-6	x	x	x	x
206.	Methabenzthiazuron	18691-97-9	x	x	x	x
207.	Methacrifos	62610-77-9	x	x	x	x
208.	Methamidophos	10 265-92-6	x	x	x	x
209.	Methidathion	950-37-8	x	x	x	x
210.	Methiocarb	2 032-65-7	x	x	x	x
211.	Methiocarb-sulfone	2 179-25-1	x		x	x
212.	Methiocarb-sulfoxid	2 635-10-1	x	x	x	x
213.	Methomyl	16 752-77-5	x	x	x	x
214.	Methoxyfenozide	161 050-58-4	x	x	x	x
215.	Metolachlor (S-)	51 218-45-2	x	x	x	x
216.	Metolcarb	1129-41-5	x	x	x	x
217.	Metrafenone	220 899-03-6	x	x	x	x
218.	Metribuzin	21 087-64-9	x	x	x	x
219.	Metsulfuron methyl	74223-64-6	x	x	x	
220.	Molinate	2212-67-1	x	x	x	x
221.	Monocrotophos	6 923-22-4	x	x	x	x
222.	Monolinuron	1746-81-2	x	x	x	x
223.	Monuron	150-68-5	x	x	x	x
224.	Myclobutanil	88 671-89-0	x	x		
225.	Napropamide	15299-99-7	x	x	x	x
226.	Nitenpyram	150824-47-8	x	x	x	x
227.	Novaluron	116714-46-6	x	x	x	x
228.	Omethoate	1 113-02-6	x	x	x	x
229.	Orthosulfamuron	213464-77-8	x	x	x	x
230.	Oxadiargyl	39807-15-3	x	x	x	x
231.	Oxadiazon	19 666-30-9	x			
232.	Oxadixyl	77 732-09-3	x	x	x	x
233.	Oxamyl	23 135-22-0	x	x	x	x
234.	Oxycarboxin	5259-88-1	x	x	x	x
235.	Oxydemeton - methyl	301-12-2	x	x	x	x
236.	Oxyfluorfen	42874-03-3	x	x	x	x
237.	Paclobutrazol	76738-62-0	x	x	x	x
238.	Paraoxon-methyl	950-35-6	x	x	x	x
239.	Parathion	56-38-2	x			
240.	Parathion-methyl	298-00-0	x			
241.	Penconazole	66 246-88-6	x	x	x	x
242.	Pencycuron	66 063-05-6	x	x	x	x
243.	Pendimethalin	40 487-42-1	x	x	x	x
244.	Penoxsulam	219714-96-2	x	x	x	x
245.	Permethrin	52 645-53-1	x			

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
246.	Phenmedipham	13 684-63-4	x	x	x	x
247.	Phenthoate	07-03-97	x	x	x	x
248.	Phenylphenol, 2-	90-43-7	x	x	x	x
249.	Phosalone	2 310-17-0	x			
250.	Phosmet	732-11-6	x			
251.	Phosphamidon	13171-21-6	x	x	x	x
252.	Phoxim	14 816-18-3	x	x	x	x
253.	Picolinafen	137641-05-5	x	x	x	x
254.	Picoxystrobin	117428-22-5	x	x	x	
255.	Piperonyl butoxide	51-03-6	x	x	x	x
256.	Pirimicarb	23 103-98-2	x	x	x	x
257.	Pirimicarb, desmethyl-	30 614-22-3	x	x	x	x
258.	Pirimiphos-methyl	29 232-93-7	x	x	x	x
259.	Prochloraz	67747-09-5	x	x	x	x
260.	Procymidone	32 809-16-8	x	x		
261.	Profenofos	41 198-08-7	x	x	x	x
262.	Profoxydim	139001-49-3	x	x	x	x
263.	Propachlor	1918-16-7	x	x	x	x
264.	Propamocarb hydrochloride	24 579-73-5	x	x	x	x
265.	Propanil	709-98-8	x	x	x	x
266.	Propaquizafop	111479-05-1	x	x	x	x
267.	Propargite	2 312-35-8	x	x	x	x
268.	Propiconazole	60 207-90-1	x	x	x	x
269.	Propisochlor	86763-47-5	x	x	x	x
270.	Propoxur	114-26-1	x	x	x	x
271.	Propyrisulfuron	570415-88-2	x	x	x	x
272.	Propyzamide	23 950-58-5	x	x	x	x
273.	Prosulfocarb	52 888-80-9	x	x	x	x
274.	Prothiofos	34 643-46-4	x			
275.	Pymetrozine	123 312-89-0			x	x
276.	Pyraclofos	89784-60-1	x	x	x	x
277.	Pyraclostrobin	175 013-18-0	x	x	x	x
278.	Pyrazosulfuron-ethyl	93697-74-6	x	x	x	x
279.	Pyrethrin I	121-21-1	x	x	x	x
280.	Pyrethrin II	121-29-9	x	x	x	x
281.	Pyridaben	96 489-71-3	x	x		
282.	Pyridalyl	179101-81-6	x	x	x	x
283.	Pyridaphenthion	119-12-0	x	x	x	x
284.	Pyrifenox	88 283-41-4	x	x	x	x
285.	Pyrimethanil	53 112-28-0	x	x	x	x
286.	Pyriproxyfen	95 737-68-1	x	x	x	x
287.	Quinalphos	13 593-03-8	x	x	x	x
288.	Quinclorac	84087-01-4	x	x	x	x

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (tiếp theo)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
289.	Quinoxifen	124 495-18-7	X	X	X	X
290.	Quintozene (PCNB)	82-68-8	X	X	X	X
291.	Quizalofop ethyl	13593-08-3	X	X	X	X
292.	Rotenone	83-79-4	X	X	X	X
293.	Sethoxydim	74051-80-2	X	X	X	X
294.	S-Metolachlor	87392-12-9	X	X	X	X
295.	Spinetoram	187166-40-1	X	X	X	X
296.	Spinosad	168316-95-8	X	X	X	X
297.	Spinosyn A	131 929-60-7	X	X	X	X
298.	Spinosyn D	131 929-63-0	X	X	X	X
299.	Spirodiclofen	148 477-71-8	X	X	X	X
300.	Spiromesifen	283594-90-1	X	X	X	X
301.	Spirotetramat	203313-25-1	X	X	X	X
302.	Spiroxamine	118 134-30-8	X	X	X	X
303.	Sulfoxaflor	946578-00-3	X	X	X	X
304.	Tebuconazole	107 534-96-3	X	X	X	X
305.	Tebufenozide	112 410-23-8	X	X	X	X
306.	Tebufenpyrad	119 168-77-3	X	X	X	X
307.	Tebuthiuron	34014-18-1	X	X	X	X
308.	Teflubenzuron	83 121-18-0	X			
309.	Tefluthrin	79 538-32-2	X	X	X	X
310.	Tepraloxymid	149 979-41-9	X	X	X	X
311.	Terbutylazine	5915-41-3	X	X	X	X
312.	Tetraconazole	112 281-77-3	X	X	X	X
313.	Tetradifon	116-29-0	X	X	X	X
314.	Tetramethrin	51 384-90-4	X			
315.	Thiabendazole	148-79-8	X	X	X	X
316.	Thiacloprid	111 988-49-9	X	X	X	X
317.	Thiamethoxam	153 719-23-4	X	X	X	X
318.	Thiobencarb	28249-77-6	X	X	X	X
319.	Tolclofos-methyl	57 018-04-9	X	X	X	X
320.	Tolyfluanid	731-27-1	X	X		X
321.	Transfluthrin	118712-89-3	X	X	X	
322.	Triadimefon	43 121-43-3	X	X	X	X
323.	Triadimenol	55 219-65-3	X			X
324.	Triasulfuron	82097-50-5	X	X	X	X
325.	Triazophos	24 017-47-8	X			
326.	Trichlorfon	52-68-6	X	X	X	X
327.	Tricyclazole	41 814-78-2	X			
328.	Tridemorph	81412-43-3	X	X	X	
329.	Trifloxystrobin	141 517-21-7	X	X	X	X
330.	Triflumizole	68 694-11-1	X	X	X	X
331.	Triflumuron	64 628-44-0	X	X	X	X
332.	Trifluralin	1 582-09-8	X			
333.	Triticonazole	131983-72-7	X	X	X	X
334.	Uniconazole	83657-22-1	X	X	X	X

Bảng 7 - Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (Kết thúc)

STT	Chất phân tích	CAS	Nhóm thực phẩm (xem [6])			
			Hàm lượng nước cao	Hàm lượng nước và axit cao	Hàm lượng nước thấp và tinh bột cao	Hàm lượng nước thấp và lượng đường cao
335.	Vinclozolin	50 471-44-8	x	x	x	x
336.	Zoxamide	156 052-68-5	x	x	x	x

7 Phép thử khẳng định

Để khẳng định kết quả định lượng, cần phân tích lần 2 nếu nghi ngờ kết quả lần 1 quá lớn. Thông tin thêm về việc xác nhận được nêu trong [6].

8 Độ chụm

Chi tiết về thử nghiệm liên phòng của độ chính xác của phương pháp được tóm tắt trong CEN/TR 17063. Các giá trị thu được từ thử nghiệm liên phòng có thể không áp dụng được cho các khoảng nồng độ thuốc BVTV và những nền mẫu khác với CEN/TR 17063.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm nên chứa ít nhất các thông tin sau đây:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết về mẫu thử;
- tham khảo tiêu chuẩn này;
- kết quả và các đơn vị trong đó kết quả đã được thể hiện;
- ngày và phương pháp lấy mẫu (nếu có thể);
- ngày nhận mẫu ở phòng thí nghiệm;
- ngày thử nghiệm;
- bất kỳ quan sát cụ thể nào được thực hiện trong quá trình thử nghiệm;
- tất cả các chi tiết không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy chọn có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A

(Quy định)

Mô tả các quy trình

A.1 Thuốc thử dùng trong các mô đun chiết (E), làm sạch (C) và ổn định (S)

A.1.1 Yêu cầu chung và yêu cầu về an toàn

Chỉ sử dụng các thuốc thử thuộc loại tinh khiết phân tích, trừ khi có quy định khác. Tránh làm nhiễm bẩn nước, dung môi và các muối vô cơ,...

A.1.2 Dung dịch nội chuẩn và chuẩn kiểm soát chất lượng trong axetonitril (nồng độ ρ 10 $\mu\text{g/ml}$ đến 50 $\mu\text{g/ml}$)

Bảng A.1 liệt kê danh sách các chất nội chuẩn (ISTD) và chuẩn kiểm soát chất lượng (QC) có thể được sử dụng trong tiêu chuẩn này. Các giá trị nồng độ gợi ý (C_{ISTD}) được liệt kê đề cập đến các dung dịch ISTD cần được thêm vào ở bước chiết đầu tiên. Dung dịch này cần được pha loãng thích hợp ($C_{ISTD}^{\text{hỗn hợp đường chuẩn}}$) để sử dụng cho việc chuẩn bị các dung dịch chuẩn

A.1.3 Axetonitril, $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$, loại dùng cho HPLC.

A.1.4 Magie sulfat khan, MgSO_4 , dạng hạt.

Loại bỏ Phthalat bằng cách nung trong lò nung ở nhiệt độ 550 °C (qua đêm).

A.1.5 Sodium clorua, NaCl .

A.1.6 Disodium hydrogencitrat sesquihydrat, $\text{HOC}(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$.

A.1.7 Trisodium citrat dihydrat, $\text{HOC}(\text{COONa})(\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

A.1.8 Hỗn hợp muối đậm cho quá trình chiết và phân bố thứ 2:

Cân ($4 \pm 0,2$) g magie sulfat khan (A.1.4), ($1 \pm 0,05$) g sodium clorua (A.1.5), ($1 \pm 0,05$) g trisodium citrat dihydrat (A.1.7) và ($0,5 \pm 0,03$) g disodium hydrogencitrat sesquihydrat (A.1.6) vào trong ống ly tâm (A.2.4). Khối lượng này dùng cho khoảng 10 ml nước trong mẫu. Có thể sử dụng các hỗn hợp thương mại cùng thành phần

CHÚ THÍCH: Nên chuẩn bị đủ số lượng hỗn hợp muối-đậm trước để quá trình chiết có thể được thực hiện nhanh chóng mà không bị gián đoạn.

A.1.9 Dung dịch sodium hydroxit, NaOH , nồng độ 5 mol/l:

Hòa tan 2 g sodium hydroxit trong khoảng 5 ml nước và pha loãng thành 10 ml.

A.1.10 Nước lạnh (nhiệt độ nhỏ hơn 4 °C).**A.1.11 Đá khô.****A.1.12 Nitơ lỏng.****A.1.13. Axit sulfuric, nồng độ 2,5 mol/l (5 N):**

Hòa tan 25 g axit sulfuric đậm đặc (18 mol/l) trong 50 ml nước và pha loãng thành 100 ml.

A.1.14 Magie sulfat khan, $MgSO_4$, dạng bột.

Loại bỏ Phthalat bằng cách nung trong lò nung ở nhiệt độ 550 °C (qua đêm).

Bảng A.1 - Các chất nội chuẩn (ISTD) và chuẩn kiểm soát chất lượng (QC) có thể được sử dụng

Tên hợp chất	Log P (hệ số phân bố octanol- nước)	Số nguyên tử clo	Nồng độ C _{ISTD} (µg/ml) ^a	GC				LC	
				ECD	NPD	FPD	MS/MS or MSD EI (+)	MS/MS ESI (+)	MS/MS ESI (-)
Nội chuẩn									
PCB 18 ^{c,d}	5,55	3	50	+++	-	-	++	-	-
PCB 28 ^{c,d}	5,62	3	50	+++	-	-	++	-	-
PCB 52 ^{c,d}	6,09	4	50	+++	-	-	++	-	-
Triphenylphosphate ^d	4,59	-	20	-	+++	+++	+++	+++	-
Tris-(1,3- dichlorisopropyl)- phosphate	3,65	6	50	+++	+++	+++	+++	+++	+
Triphenylmethane ⁴	5,37	-	10	-	-	-	+++	-	-
2,4-D ¹³ C6 (vòng)	Phụ thuộc pH	2	10	-	-	-	-	-	+++
Chlorpyrifos D10 (diethyl D10) ⁴	4,7	3	10	+++	+++	+++	+++	+++	-
Diuron D6 (dimethyl D6)	2,9	2	10	-	-	-	-	+++	-
Diazinon D10 (diethyl D10)	3,8	-	20	++	+++	+++	+++	+++	-

Bảng A.1 (kết thúc)

Tên hợp chất	Log P (hệ số phân bố octanol-nước)	Số nguyên tử clo	Nồng độ C _{ISTD} (µg/ml) ^a	GC				LC	
				ECD	NPD	FPD	MS/MS or MSD EI (+)	MS/MS ESI (+)	MS/MS ESI (-)
Metalaxyl D6 (dimethyl D6)	1,65	0	10	-	++	-	+++	+++	-
N,N'-Bis-4-nitrophenyl) urea (BNPU) ^e	3,76	-	10	-	-	-	-	-	+++
Chuẩn QC (có thể được pha cùng hỗn hợp với các chất ISTD khác hoặc thêm vào các giai đoạn phân tích khác nhau để phát hiện và xác định nguyên nhân gây sai lệch)									
PCB 138 ^{d,f}	6,83	6	50	+++	-	-	+++	-	-
PCB 153 ^{d,f}	7,75	6	50	+++	-	-	+++	-	-
Anthracen (hoặc D10 Anthracen) ^g	4,45	-	100	-	-	-	-	-	-
CHÚ THÍCH: a hệ số phân bố octanol-nước b nồng độ đề xuất ; dung môi: axetonitril c không thích hợp nếu GCB được dùng làm sạch d không thích hợp khi chiết nông sản có hàm lượng dầu cao dùng quy trình E6 e thành phần của nicarbazin f Tỷ lệ hiệu suất thu hồi của PCB 138 và 153 giảm khi hàm lượng dầu trong mẫu cao. Nếu hiệu suất thu hồi của những nội chuẩn này lớn hơn 70 %, thì không xảy ra mất các thuốc BVTV tan trong dầu. g Nếu hiệu suất thu hồi của anthracen lớn hơn 70 %, thì không xảy ra mất các thuốc BVTV khi làm sạch với GCB +++ phát hiện rất tốt ++ phát hiện tốt + phát hiện kém - không áp dụng									

A.1.15 Chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2.

Những chất hấp phụ amin khác có thể được sử dụng, nhưng cần nghiên cứu để đảm bảo sự tương đương, đặc biệt liên quan đến sự mất mát của chất phân tích và giá trị pH của dịch chiết sau cùng.

A.1.16 Chất hấp phụ C18, chất hấp phụ pha đảo C18.

A.1.17 Chất hấp phụ graphit carbon (GCB).

Những chất hấp phụ graphit carbon khác có thể được sử dụng, nhưng cần nghiên cứu để đảm bảo sự tương đương, đặc biệt liên quan đến sự mất mát của chất phân tích.

A.1.18 Dung dịch axit formic trong axetonitril, 5 ml axit formic/ 100 ml:

Pha loãng 0,5 ml axit formic (lớn hơn hoặc bằng 95 %) đến 10 ml với axetonitrile.

A.1.19 Nước, H₂O, loại 1 theo TCVN 4851:1989 (ISO 3696-1987) *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.*

A.2 Dụng cụ dùng trong các mô đun chiết (E), làm sạch (C) và ổn định (S)

Sử dụng các dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường cụ thể sau:

A.2.1 Ống ly tâm có nắp vặn, 50 ml:

Ví dụ: a) ống ly tâm 50 ml làm bằng poly-tetrafluoroethylen với nắp vặn hoặc b) ống ly tâm polypropylen 50 ml dùng một lần với nắp vặn.

A.2.2 Bộ phân phối dung môi 10 ml dùng cho axetonitril, được dùng để định lượng dung môi chiết.

A.2.3 Pipet tự động, thích hợp cho việc lấy các thể tích 10 µl đến 100 µl, 200 µl đến 1000 µl và 1 ml đến 10 ml, hoặc pipet thủy tinh chia độ 10 ml.

A.2.4 Ống ly tâm dùng một lần polypropylen với nắp vặn, 10 ml hoặc 12 ml.

A.2.5 Máy lắc, máy lắc ngang, dọc, quỹ đạo, ít nhất 200 vòng/min.

A.2.6 Máy ly tâm, thích hợp với các ống ly tâm được sử dụng trong quy trình (A.2.1, A.2.4) và có khả năng đạt tốc độ tối thiểu 3 000 vòng/min.

A.2.7 Thiết bị phân tán tốc độ cao, đường kính của các bộ phận phân tán phải vừa với các lỗ của ống ly tâm (A.2.1) được sử dụng.

A.2.8 Máy nghiền mẫu.

A.2.9 Máy lắc nhiệt, ví dụ: bể nước lắc hoặc AGTTAX SR1 CP57¹.

¹ AGTTAX là sản phẩm được cung cấp bởi hãng Cirtalab (Tây Ban Nha). Thông tin này được cung cấp để thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này. Các sản phẩm tương đương có thể được sử dụng nếu chúng cho kết quả tương đương.

A.2.10 Tủ đông, hoạt động ở nhiệt độ âm 18 °C đến âm 25 °C.

A.2.11 Vial, 1,5 ml, thích hợp cho bơm mẫu tự động GC và LC, nếu cần thiết dùng micro - insert.

A.2.12 Lọ thủy tinh có nắp vặn, 10 ml hoặc 20 ml, dùng để lưu giữ lượng dư dịch chiết sau cùng, nếu cần thiết.

A.2.13 Máy lắc vortex.

A.3 Mô tả các quy trình chiết (E)

A.3.1 Quy trình E1: Chiết 10 g mẫu thử không thêm nước dùng axetonitril

A.3.1.1 Nguyên tắc

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa lớn hơn 80 % nước, như quả, rau và nước ép. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

Mẫu đã đồng nhất được chiết trong điều kiện đông lạnh (nếu có thể) với axetonitril. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.1.2 Cách tiến hành

A.3.1.2.1 Phần mẫu thử

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($10 \pm 0,1$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1).

A.3.1.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.1.2.3. Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu ở nhiệt độ phòng từ 1 min đến 3 min hoặc 15 min đối với mẫu đông lạnh, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết.

Mẫu nên được chiết ở trạng thái đông lạnh hoặc đang tan. Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.1.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đệm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.1.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.1.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.1:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.1)$$

Trong đó:

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.2:

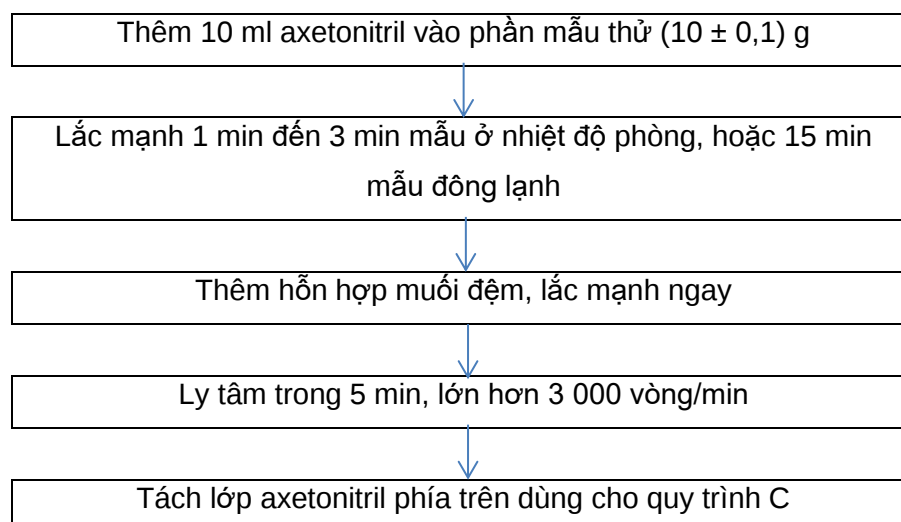
$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.2)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.1.4 Sơ đồ của quy trình E1**A.3.2 Quy trình 2: Chiết 10 g mẫu thử không thêm nước sau khi thêm 0,6 ml hoặc 0,2 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l dùng axetonitril****A.3.2.1 Nguyên tắc**

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật có tính axit và thực phẩm có tính axit chứa hơn 80 % nước. Đối với thực phẩm có tính axit cao (pH nhỏ hơn 3) như chanh dùng 0,6 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l, đối với thực phẩm ít axit hơn như quả mâm xôi dùng 0,2 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

Mẫu đã đồng nhất được chiết trong điều kiện đông lạnh (nếu có thể) với axetonitril. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đậm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.2.2 Cách tiến hành**A.3.2.2.1 Phần mẫu thử**

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($10 \pm 0,1$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1).

A.3.2.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μ l) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.2.2.3 Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$) và 0,6 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l (A.1.9) (quy trình E2a) hoặc 0,2 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l (A.1.9) (quy trình E2b). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu ở nhiệt độ phòng từ 1 min đến 3 min hoặc 15 min đối với mẫu đông lạnh, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết.

Mẫu nên được chiết ở trạng thái đông lạnh hoặc đang tan. Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.2.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đậm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.2.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.2.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.3:

$$\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}} (\text{g/ml}) = \frac{m_{\text{mẫu}}}{V_{\text{chiết}}} \quad (\text{A.3})$$

Trong đó:

$m_{\text{mẫu}}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{\text{chiết}}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{dịch chiết thô}}$ trong dịch chiết thô với công thức A.4

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.4)$$

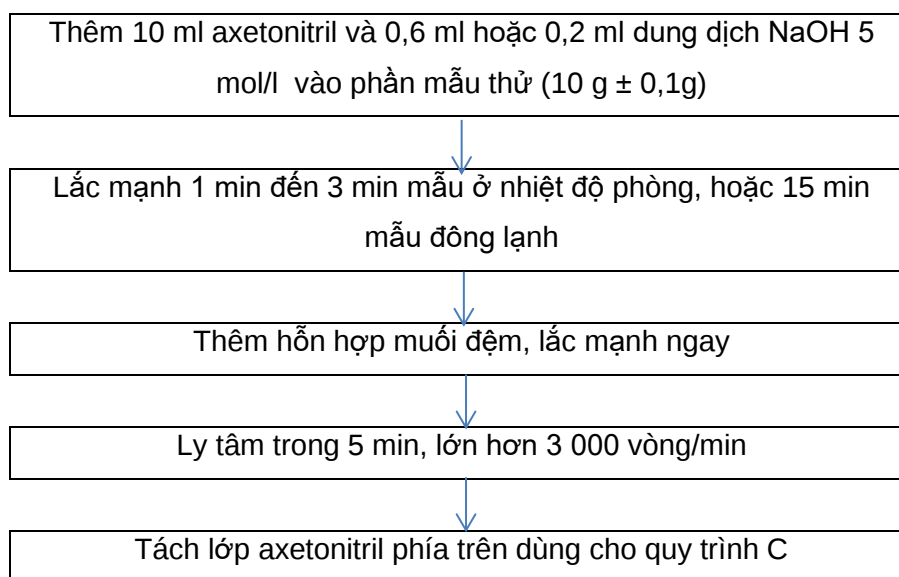
Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.2.4 Sơ đồ của quy trình E2



A.3.3 Quy trình 3: Chiết 10 g mẫu thử sau khi thêm 2,5 ml hoặc 4,5 ml nước dùng axetonitril

A.3.3.1 Nguyên tắc

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa từ 40 % đến 80 % nước như chuối và chà là tươi. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

Nước được thêm vào mẫu đã đồng nhất để thu được tổng lượng nước khoảng 10 g trong phần chiết. Mẫu được chiết trong điều kiện đông lạnh (nếu có thể) với axetonitril. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đậm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.3.2 Cách tiến hành

A.3.3.2.1 Phần mẫu thử và thêm nước

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($10 \pm 0,1$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1).

Đối với mẫu chứa từ 40 % đến 80 % nước, một lượng nước lạnh vừa đủ (A.1.10) được thêm vào mẫu để thu được tổng lượng nước khoảng 10 g trong phần chiết. Thêm 2,5 ml (quy trình E3a) hoặc 4,5 ml (quy trình E3b) nước phụ thuộc vào loại thực phẩm (xem Bảng 6).

A.3.3.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.3.2.3 Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu ở nhiệt độ phòng từ 1 min đến 3 min hoặc 15 min đối với mẫu đông lạnh, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết.

Mẫu nên được chiết ở trạng thái đông lạnh hoặc đang tan. Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.3.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đệm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.3.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn

3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.3.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng

được chiết và thể tích chiết. $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.5:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.5)$$

Trong đó:

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.6

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.6)$$

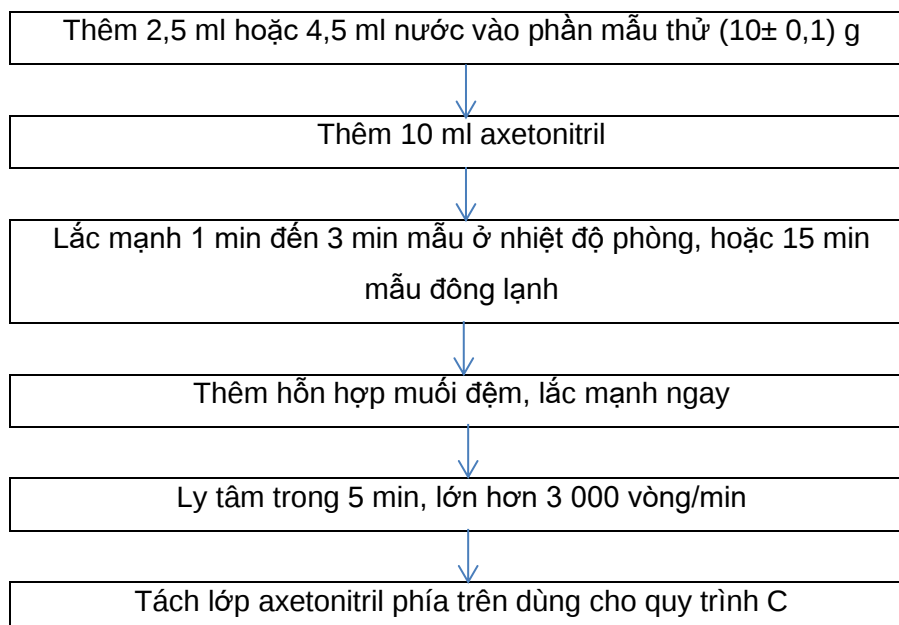
Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.3.4 Sơ đồ của quy trình E3



A.3.4 Quy trình 4: Đồng nhất mẫu cùng với lượng nước được thêm vào, chiết 13,5 g mẫu đã đồng nhất với axetonitril

A.3.4.1 Nguyên tắc

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa từ 15 % đến 40 % nước như quả khô và những sản phẩm tương tự. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

Mẫu được đồng nhất sau khi thêm nước. Mẫu đã đồng nhất được chiết trong điều kiện đông lạnh (nếu có thể) với axetonitril. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.4.2 Cách tiến hành

A.3.4.2.1 Đồng nhất và phần mẫu thử

Thêm 850 g nước lạnh (A.1.10) vào trong 500 g mẫu khô đông lạnh và đồng nhất hỗn hợp này (nếu có thể thêm đá khô (A.1.11)) bằng máy nghiền mẫu (A.2.8).

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($13,5 \pm 0,1$) g (tương ứng với 5 g của phần mẫu thử ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1).

A.3.4.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{\text{ISTD}}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.4.2.3 Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu ở nhiệt độ phòng từ 1 min đến 3 min hoặc 15 min đối với mẫu đông lạnh, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết.

Mẫu nên được chiết ở trạng thái đông lạnh hoặc đang tan. Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.4.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đậm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.4.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn

3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.4.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.7:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.7)$$

Trong đó:

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.8

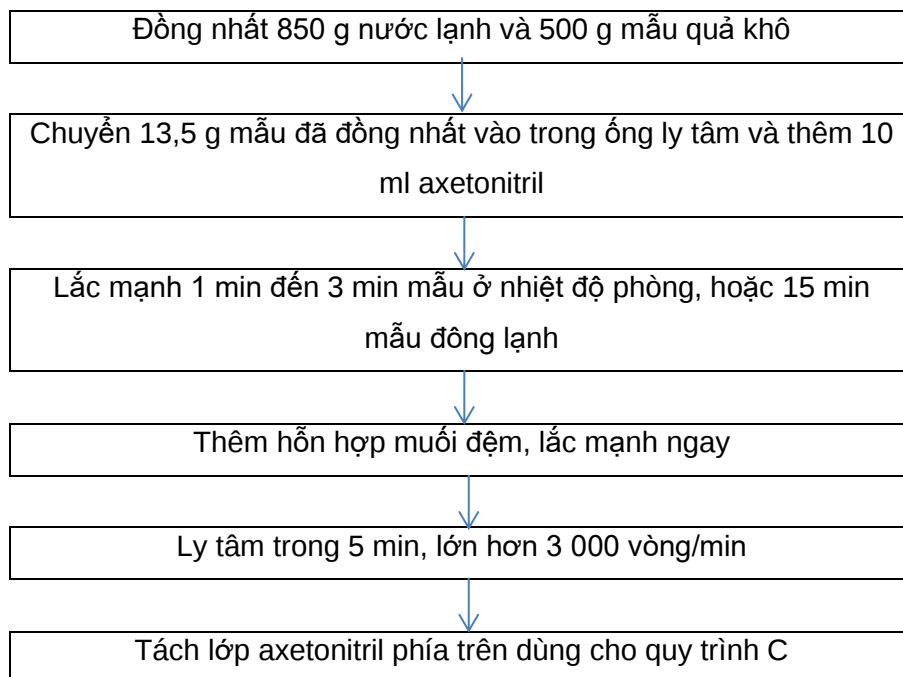
$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.8)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.4.4 Sơ đồ của quy trình E4**A.3.5 Quy trình 5: Chiết 5 g phần mẫu thử sau khi thêm 10 ml nước với axetonitril****A.3.5.1 Nguyên tắc**

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa ít hơn 15 % nước như sản phẩm ngũ cốc và mật ong. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

10 ml nước được thêm vào mẫu đã đồng nhất được chiết bằng axetonitril. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.5.2 Cách tiến hành**A.3.5.2.1 Phần mẫu thử và thêm nước**

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($5 \pm 0,05$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1) và thêm 10 ml nước lạnh (A.1.10). Ảnh hưởng của thời gian phòng lên kéo dài nên được kiểm tra.

A.3.5.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{\text{ISTD}}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.5.2.3 Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu trong 15 min, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết. nếu không có máy lắc thì lắc mạnh 1 min bằng tay sau khi ngâm mẫu 15 min và lắc lại trong 1 min.

Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.5.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đệm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.4.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn

3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.5.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.9:

$$\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}} (g/ml) = \frac{m_{\text{mẫu}}}{V_{\text{chiết}}} \quad (\text{A.9})$$

Trong đó:

$m_{\text{mẫu}}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{\text{chiết}}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{\text{ISTD}}^{\text{dịch chiết thô}}$ trong dịch chiết thô với công thức A.10

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.10)$$

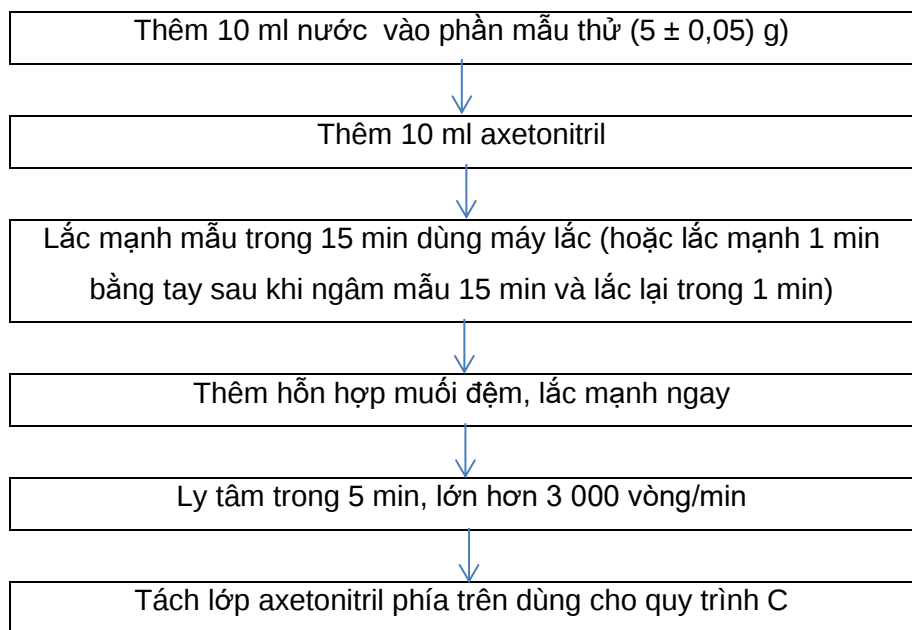
Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.5.4 Sơ đồ của quy trình E5



A.3.6 Quy trình 6: Chiết 5 g phần mẫu thử sau khi thêm 6 ml nước với axetonitril

A.3.6.1 Nguyên tắc

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm chứa từ 45 % đến 80 % nước và phần mẫu nhiều hoặc hàm lượng chất béo cao (lớn hơn 5 %), như tỏi và quả bơ. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

6 ml nước được thêm vào mẫu đã đồng nhất (5 g) để thu được tổng lượng nước khoảng 10 g trong phần chiết. Mẫu được chiết trong điều kiện đông lạnh (nếu có thể) với axetonitril. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.6.2 Cách tiến hành

A.3.6.2.1 Phần mẫu thử và thêm nước

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($5 \pm 0,05$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1) và thêm 6 ml nước lạnh (A.1.10).

A.3.6.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.6.2.3 Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu ở nhiệt độ phòng từ 1 min đến 3 min hoặc 15 min đối với mẫu đông lạnh, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết.

Mẫu nên được chiết ở trạng thái đông lạnh hoặc đang tan. Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.6.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đậm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.4.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn

3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.6.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.11:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.11)$$

Trong đó:

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.12

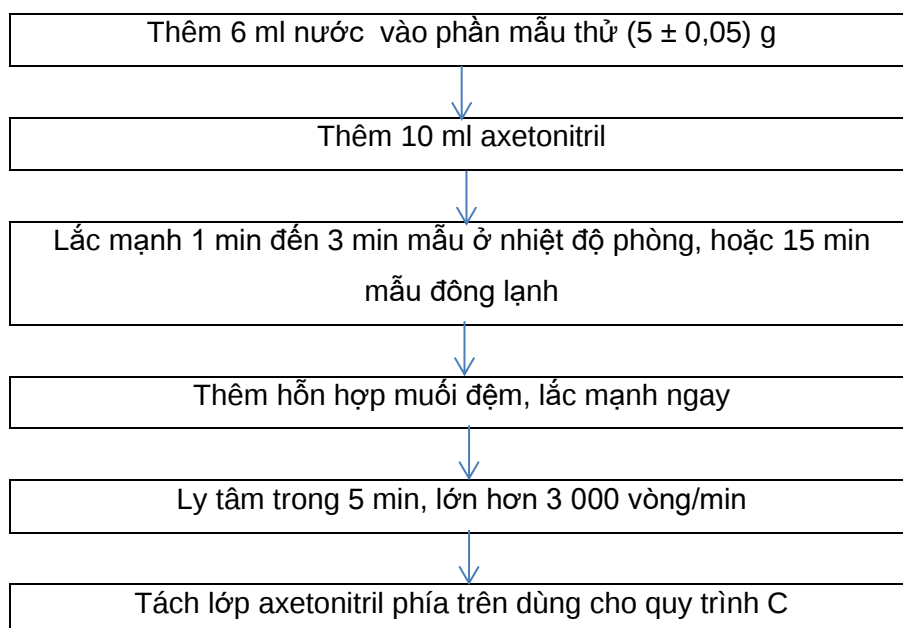
$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.12)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.6.4 Sơ đồ của quy trình E6

A.3.7 Quy trình 7: Chiết 2 g phần mẫu thử sau khi thêm 10 ml nước với axetonitril

A.3.7.1 Nguyên tắc

Quy trình chiết xuất này được sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm với hàm lượng nước rất thấp (nhỏ hơn 10 %) và phần mẫu nhiều như gia vị, cà phê, thuốc lá hoặc chè. Bảng 6 nêu ra các thực phẩm được chiết xuất tốt nhất với quy trình chiết này.

10 ml nước được thêm vào mẫu đã đồng nhất (2 g) được chiết với axetonitrile. Sau khi thêm magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.7.2 Cách tiến hành

A.3.7.2.1 Phần mẫu thử và thêm nước

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($2 \pm 0,02$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1) và thêm 10 ml nước lạnh (A.1.10). Ảnh hưởng của thời gian phòng lên kéo dài nên được kiểm tra.

A.3.7.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.7.2.3 Bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh mẫu trong 15 min, dùng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết. nếu không có máy lắc thì lắc mạnh 1 min bằng tay sau khi ngâm mẫu 15 min và lắc lại trong 1 min.

Nếu mẫu được chiết ở nhiệt độ môi trường, cần đảm bảo rằng không có sự phân hủy đáng kể của những thuốc BVTV phân tích. Thời gian chiết có thể kéo dài nếu không có sự ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi.

Nếu mẫu không đồng nhất, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.7.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đậm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.7.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn

3 000 vòng/min.

Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.7.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.13:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.13)$$

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

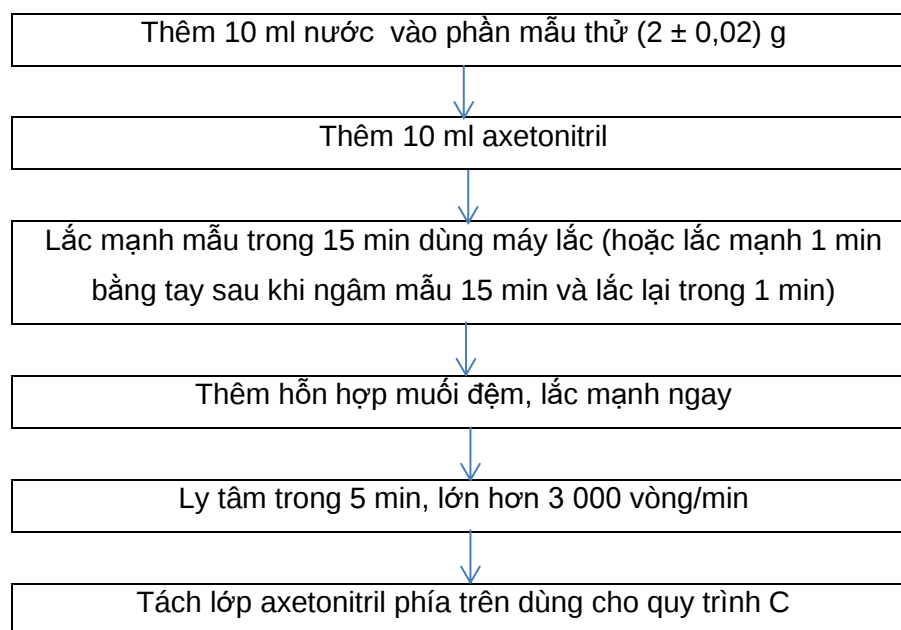
Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.14

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.14)$$

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.7.4 Sơ đồ của quy trình E7**A.3.8 Quy trình 8: Chiết 10 g mẫu thử không cần thêm nước bằng cách thủy phân đồng thời các ester không bền kiềm và các liên hợp với axetonitril****A.3.8.1 Nguyên tắc**

Quy trình chiết xuất này được sử dụng để xác định các thuốc BVTV có tính axit, trong đó định nghĩa dư lượng bao gồm axit tự do, cũng như ester và liên hợp, có thể hoặc phải được thủy phân trong môi trường kiềm theo phân tích dư lượng cho việc thiết lập MRL. Quy trình chiết này đưa ra điều kiện thủy phân mặc định của các liên hợp và ester của 2,4-D, 2,4-DB, clopyralid, dichlorprop(-P), fluazifop(-P), fluroxypyr, haloxyfop và MCPA/MCPB. Hầu hết các ester có liên quan của các hợp chất đã cho thực tế bị thủy phân định lượng trong các điều kiện nhất định. Quy trình chiết này thực sự không áp dụng được trên các liên hợp 6-OH và 8-OH bentazone, dicamba và pyridate. Quy trình chiết này sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm mà theo Bảng 6 các quy trình chiết E1, E2a hoặc E2b thường được sử dụng.

Mẫu đã đồng nhất được chiết ở nhiệt độ 40 °C với axetonitril sau khi thêm 1 mmol sodium hydroxit đối với 1 g mẫu đối với thực phẩm rất axit (thường chiết bằng quy trình E2a, như chanh) hoặc 0,5 mmol sodium hydroxit đối với 1 g mẫu đối với tất cả các thực phẩm khác. Sau khi thêm axit sulfuric (cho việc trung hòa), magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết.

A.3.8.2 Cách tiến hành**A.3.8.2.1 Phần mẫu thử**

Chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($10 \pm 0,1$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1).

Vì hàm lượng axit của chanh phải được xem xét để trung hòa, nên phần mẫu thử của các thực phẩm có tính axit chỉ có thể giảm nếu thể tích dung dịch sodium hydroxit giảm theo tỉ lệ.

A.3.8.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{mẫu}$, VD 100 μl) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.8.2.3 Thủy phân và bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$). Thêm 2,0 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l (A.1.9) đối với thực phẩm rất axit (thường chiết bằng quy trình E2a, như chanh) hoặc 1,0 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l (A.1.9) đối với tất cả các thực phẩm khác. Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh trong 30 min ở nhiệt độ 40 °C dùng máy lắc nhiệt (A.2.9). Để trung hòa thêm 1,4 ml axit sulfuric 2,5 mol/l (A.1.13) đối với thực phẩm rất axit hoặc 1,0 ml axit sulfuric 2,5 mol/l (A.1.13) đối với các thực phẩm khác.

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.8.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đệm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.8.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min. Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.8.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{\text{mẫu}}^{\text{dịch chiết thô}}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.15:

$$\rho_{mẫu}^{dịch chiết thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.15)$$

Trong đó:

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch chiết thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.16

$$\rho_{ISTD}^{dịch chiết thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.16)$$

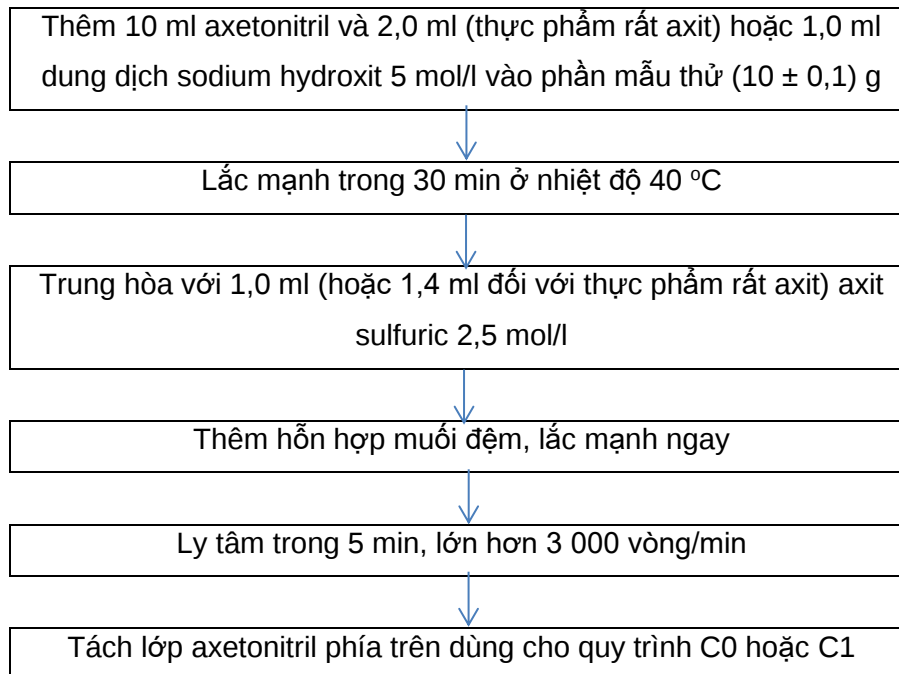
Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.8.4 Sơ đồ của quy trình E8



A.3.9 Quy trình 9: Chiết 2 g hoặc 5 g mẫu thử sau khi thêm nước bằng cách thủy phân kiểm đồng thời các ester không bền kiểm và các liên hợp với axetonitril

A.3.9.1 Nguyên tắc

Quy trình chiết xuất này được sử dụng để xác định các thuốc BVTV có tính axit, trong đó định nghĩa dư

lượng bao gồm bao gồm axit tự do, cũng như ester và liên hợp, có thể hoặc phải được thủy phân dưới điều kiện kiểm theo phân tích dư lượng cho việc thiết lập MRL. Quy trình chiết này đưa ra điều kiện thủy phân mặc định của các liên hợp và ester của 2,4-D, 2,4-DB, clopyralid, dichlorprop(-P), fluazifop(-P), fluroxypyr, haloxyfop và MCPA/MCPB. Hầu hết các ester có liên quan của các hợp chất đã cho thực tế bị thủy phân định lượng trong các điều kiện nhất định. Quy trình chiết này thực sự không áp dụng được trên các liên hợp 6-OH và 8-OH bentazone, dicamba và pyridate. Quy trình chiết này sử dụng cho nguyên liệu thực vật và thực phẩm mà theo Bảng 6 các quy trình chiết E5, E6 hoặc E7 thường được sử dụng.

Mẫu đã đồng nhất được chiết ở nhiệt độ 40 °C với axetonitril sau khi thêm 1 mmol sodium hydroxit đối với 1 g mẫu cho 5 g phần mẫu thử hoặc 2,5 mmol sodium hydroxit đối với 1 g mẫu cho 2 g phần mẫu thử. Sau khi thêm axit sulfuric (cho việc trung hòa), magie sulfat khan, sodium clorua và muối đệm citrat (pH 5 đến pH 5,5), hỗn hợp này được lắc mạnh và ly tâm để tách pha. Lớp dung dịch của pha hữu cơ được tách và làm sạch theo quy trình làm sạch (quy trình C) nếu cần thiết. Các quy trình C2, C3, C4 và C5 có thể không được sử dụng, vì chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2 có thể làm mất các axit tự do.

A.3.9.2 Cách tiến hành

A.3.9.2.1 Phần mẫu thử

Đối với những thực phẩm thường được chiết bằng quy trình E5 hoặc E6, chuyển một phần mẫu thử đại diện cho mẫu ($5 \pm 0,05$) g và ($2 \pm 0,02$) g ($m_{\text{mẫu}}$) đối với thực phẩm bằng quy trình E7 đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 ml (A.2.1).

Vì hàm lượng axit của chanh phải được xem xét để trung hòa, nên phần mẫu thử của các thực phẩm có tính axit chỉ có thể giảm nếu thể tích dung dịch sodium hydroxit giảm theo tỉ lệ.

A.3.9.2.2 Thêm nội chuẩn (ISTD)

Thêm một thể tích nhỏ xác định của dung dịch ISTD (A.1.2) ($V_{ISTD}^{\text{mẫu}}$, ví dụ: 100 μ l) chứa một hoặc một vài chất được nêu trong Bảng A1 ở những nồng độ được đề nghị (C_{ISTD}).

A.3.9.2.3 Thủy phân và bước chiết mẫu đầu tiên

Thêm 10 ml nước (A.1.10) cho những thực phẩm thường được chiết bằng quy trình E5 hoặc E7, hoặc 6 ml nước (A.1.10) cho những thực phẩm thường được chiết bằng quy trình E6.

Thêm 10 ml axetonitril (A.1.3) ($V_{\text{chiết}}$) và 1,0 ml dung dịch sodium hydroxit 5 mol/l (A.1.9). Đóng chặt nắp của ống ly tâm và lắc mạnh trong 30 min ở nhiệt độ 40 °C dùng máy lắc nhiệt (A.2.9). Để trung hòa thêm 1,0 ml axit sulfuric 2,5 mol/l (A.1.13).

Nếu mức độ đồng nhất của mẫu không đủ, việc chiết xuất có thể được hỗ trợ bởi thiết bị phân tán tốc độ cao (A.2.7). Trong trường hợp này việc thêm ISTD trước bước phân tán là bắt buộc. Bộ phận phân tán được nhúng vào trong mẫu/hỗn hợp axetonitril và nghiền mẫu khoảng 2 min ở tốc độ cao. Bộ phận phân tán phải được làm sạch hoàn toàn trước khi sử dụng cho mẫu tiếp theo để tránh nhiễm bẩn.

A.3.9.2.4 Bước chiết và phân bố thứ hai

Thêm hỗn hợp muối đệm (A.1.8) vào phần dung dịch thu được từ A.3.8.2.3. Đóng chặt nắp, lắc mạnh ngay trong 1 min bằng tay hoặc 3 min bằng máy lắc (A.2.5) và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min. Không để chậm trễ tách lớp axetonitril phía trên và chuyển dịch chiết thô thu được sang các quy trình làm sạch C0 hoặc C1.

Khi có nước, magie sulfat có khuynh hướng vón cục và cứng rất nhanh. Điều này có thể tránh được bằng cách lắc mạnh trong vài giây ngay sau khi thêm hỗn hợp muối vào ống ly tâm. Bước chiết 1 min hoặc 3 min còn lại có thể được tiến hành song song sau khi muối được thêm vào tất cả các mẫu.

A.3.9.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.17:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} (g/ml) = \frac{m_{mẫu}}{V_{chiết}} \quad (A.17).$$

Trong đó:

$m_{mẫu}$: khối lượng phần mẫu thử, g;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô}$ trong dịch chiết thô với công thức A.18

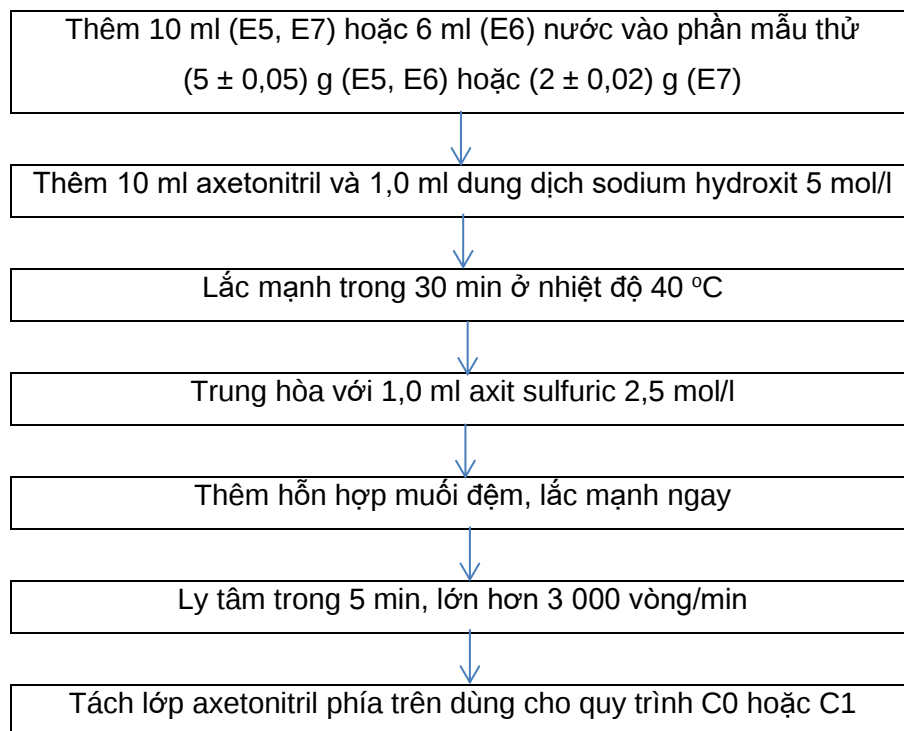
$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ thô} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \quad (A.18).$$

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml.

A.3.9.4 Sơ đồ của quy trình E9



A.4 Mô tả các quy trình làm sạch (C)

A.4.1 Quy trình C0: Không làm sạch

A.4.1.1 Nguyên tắc

Quy trình làm sạch này dùng cho dịch chiết thu được bởi các quy trình từ E1 đến E9 để xác định các thuốc BVTB để phân hủy kiềm và axit (pK_a nhỏ hơn 5), các thuốc BVTB này có thể kết hợp với chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2 dùng trong các quy trình từ C2 đến C5. Quy trình làm sạch này cũng có thể dùng để phân tích những thực phẩm có phần mẫu ít. Các quy trình làm sạch được đề xuất cho các nền mẫu khác được đưa ra trong Bảng 6.

Dịch chiết thô thu được từ các quy trình từ E1 đến E9 không làm sạch và không ổn định dịch chiết (quy trình S), nhưng có thể được pha loãng nếu có.

A.4.1.2 Cách tiến hành

Để giảm ảnh hưởng của nền mẫu, một phần của dịch chiết thô (V1) có thể được pha loãng với một thể tích xác định của dung môi thích hợp (V2) để tạo ra tổng thể tích (V1+V2) **nếu độ nhạy của hệ thống vẫn đảm bảo**. Nếu cần ổn định dịch chiết, dịch chiết đã được pha loãng được chuyển đến quy trình S1.

A.4.1.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư

lượng được chiết và thể tích chiết. Thường $\rho_{mẫu}^{dịch chiết sau cùng}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.19:

$$\rho_{mẫu}^{dịch chiết sau cùng} (g/ml) = \rho_{mẫu}^{dịch chiết thô} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.19)$$

Trong đó:

$\rho_{mẫu}^{dịch chiết thô}$: nồng độ khối lượng của dịch chiết thô, g/ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch chiết sau cùng}$ trong dịch chiết sau cùng với công thức A.20

$$\rho_{ISTD}^{dịch chiết sau cùng} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.20)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

A.4.1.4 Sơ đồ của quy trình C0

Pha loãng (nếu thích hợp) và dùng trong quy trình S

A.4.2 Quy trình C1: Làm sạch bằng cách đông lạnh chất béo, sáp thực vật, đường cộng chiết

A.4.2.1 Nguyên tắc

Quy trình làm sạch này dùng cho dịch chiết thu được bởi các quy trình E2, E5, E6, E8 và E9 để giảm lượng chất béo trong dịch chiết có hàm lượng chất béo cao. Nó có thể được sử dụng kết hợp với những quy trình làm sạch khác (C2, C3 và C5). Các quy trình làm sạch được đề xuất cho các nền mẫu khác được đưa ra trong Bảng 6.

Dịch chiết thô thu được từ các quy trình E2, E5, E6, E8 và E9 được tách chất béo bằng cách đông

lạnh. Dịch chiết thu được có thể được làm sạch bằng các quy trình khác hoặc sử dụng để ổn định dịch chiết (quy trình S).

A.4.2.2 Cách tiến hành

Chuyển 8 ml dung dịch của pha axetonitril thu được từ các quy trình E2, E5 và E6 vào trong ống ly tâm (A.2.4) và để qua đêm trong tủ đông (A.2.10) (đối với bột mịn, 2 h là đủ) trong đó những phần chính của chất béo và sáp thực vật sẽ đông rắn lại và kết tủa. Sau khi ly tâm ngắn (khi cần thiết), 6 ml dịch chiết vẫn còn lạnh được lấy để làm sạch thêm bởi các quy trình C2, C3 hoặc C5 hoặc để ổn định dịch chiết (quy trình S).

CHÚ THÍCH: Việc đông lạnh cũng giúp loại bỏ một phần một số chất cộng chiết trong mẫu với độ tan giới hạn trong dung môi axetonitril như đường.

Để giảm ảnh hưởng của nền mẫu, một phần của dịch chiết thô (V_1) có thể được pha loãng với một thể tích xác định của dung môi thích hợp (V_2) để tạo ra tổng thể tích (V_1+V_2) nếu độ nhạy của hệ thống vẫn đảm bảo.

Nếu cần ổn định dịch chiết, dịch chiết đã được pha loãng được chuyển đến quy trình S1.

A.4.2.3. Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. Thường $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.21:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng} (g/ml) = \rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.21)$$

Trong đó:

$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$: nồng độ khối lượng của dịch chiết thô, g/ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ trong dịch chiết sau cùng với công thức A.22

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.22)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu\text{g/ml}$;

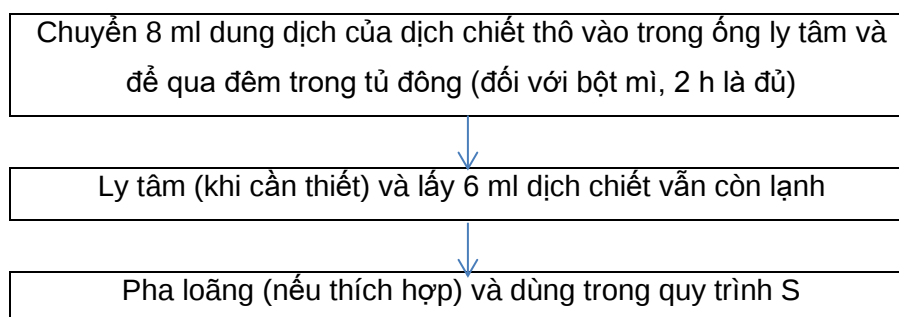
$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

A.4.2.4 Sơ đồ của quy trình C1



A.4.3 Quy trình C2: Làm sạch bằng cách chiết phân tán SPE với chất hấp phụ amin (PSA)

A.4.3.1 Nguyên tắc

Quy trình làm sạch này dùng cho dịch chiết thu được bởi các quy trình từ E1 đến E4 và E6 cho việc xác định các thuốc BVTV trung tính và kiểm tra tất cả các thực phẩm không được đề cập thêm. Nó cũng được sử dụng cho dịch chiết quả có múi sau khi làm sạch bằng quy trình C1. Các quy trình làm sạch được đề xuất cho các nền mẫu khác được đưa ra trong Bảng 6.

Dịch chiết thô thu được từ các quy trình E1 đến E4 và E6 được làm sạch bằng chiết phân tán pha rắn dùng chất hấp phụ PSA. Dịch chiết đã làm sạch được dùng để ổn định dịch chiết (quy trình S).

A.4.3.2 Cách tiến hành

6 ml dung dịch của pha axetonitril thu được từ các quy trình E1 đến E4 và E6 được chuyển vào ống ly tâm dùng một lần polypropylen (A.2.4) có chứa 150 mg PSA (A.1.15) và 900 mg magie sulfat khan (A.1.14). Đóng chặt nắp, lắc mạnh trong 30 s bằng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min. Tách và axit hóa dịch chiết đã làm sạch ngay như mô tả trong quy trình S nếu cần thiết.

Đối với 1 ml dịch chiết dùng 150 mg magie sulfat khan và 25 mg PSA nếu cần thiết.

CHÚ Ý: rất hữu ích nếu trước khi bắt đầu quá trình chiết, các ống ly tâm có sẵn chất hấp phụ chiết phân tán SPE được chuẩn bị trước hoặc có sẵn với số lượng cần thiết cho một lô mẫu.

Để giảm ảnh hưởng của nền mẫu, một phần của dịch chiết thô (V_1) có thể được pha loãng với một thể tích xác định của dung môi thích hợp (V_2) để tạo ra tổng thể tích (V_1+V_2) nếu độ nhạy của hệ thống vẫn đảm bảo.

Nếu cần ổn định dịch chiết, dịch chiết đã được pha loãng được chuyển đến quy trình S1.

A.4.2.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. Thường $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.23:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng} (g/ml) = \rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.23)$$

Trong đó:

$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$: nồng độ khối lượng của dịch chiết thô, g/ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ trong dịch chiết sau cùng với công thức A.24

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.24)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

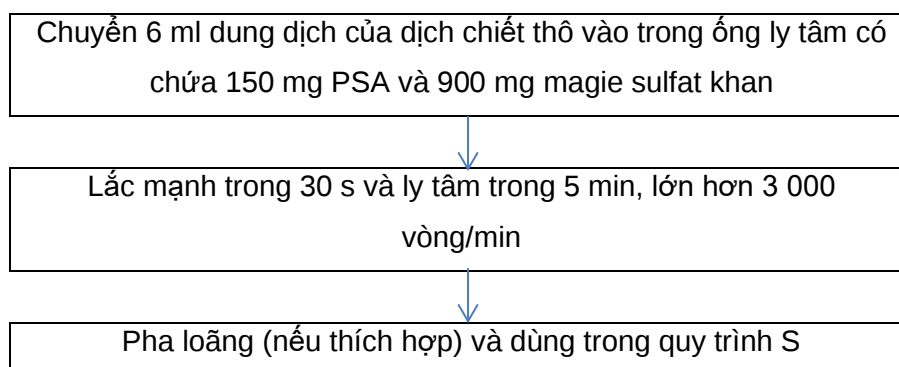
$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

A.4.3.4 Sơ đồ của quy trình C2



A.4.4 Quy trình C3: Làm sạch bằng cách chiết phân tán SPE với lượng lớn hơn chất hấp phụ amin (PSA): 50 mg PSA/ml dịch chiết hoặc 75 mg PSA/ml dịch chiết.

A.4.4.1 Nguyên tắc

Quy trình làm sạch này dùng cho dịch chiết thu được bởi quy trình E5 (ví dụ: ngũ cốc, sản phẩm ngũ cốc, lúa mì) và E7 (ví dụ: cà phê, chè, thảo dược khô, gia vị) đặc biệt cho việc xác định các thuốc BVTV trung tính và kiềm trong nguyên liệu thực vật và thực phẩm với hàm lượng nước thấp. Các quy trình làm sạch được đề xuất cho các nền mẫu khác được đưa ra trong Bảng 6.

Dịch chiết thô thu được từ các quy trình E5 và E7 được làm sạch bằng chiết phân tán pha rắn dùng một lượng tăng chất hấp phụ PSA. Dịch chiết đã làm sạch được dùng để ổn định dịch chiết (quy trình S).

A.4.4.2 Cách tiến hành

6 ml dung dịch của pha axetonitril thu được từ các quy trình E5 và E7 được chuyển vào ống ly tâm dùng một lần polypropylen (A.2.4) có chứa 300 mg PSA (A.1.15) (quy trình C3a) hoặc 450 mg PSA (A.1.15) (quy trình C3b) và 900 mg magie sulfat khan (A.1.14). Đóng chặt nắp, lắc mạnh trong 30 s bằng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min. Tách và axit hóa dịch chiết đã làm sạch ngay như mô tả trong quy trình S nếu cần thiết.

Đối với 1 ml dịch chiết dùng 150 mg magie sulfat khan và 50 mg PSA hoặc 75 mg PSA nếu cần thiết.

CHÚ Ý: rất hữu ích nếu trước khi bắt đầu quá trình chiết, các ống ly tâm có sẵn chất hấp phụ chiết phân tán SPE được chuẩn bị trước hoặc có sẵn với số lượng cần thiết cho một lô mẫu.

Để giảm ảnh hưởng của nền mẫu, một phần của dịch chiết thô (V1) có thể được pha loãng với một thể tích xác định của dung môi thích hợp (V2) để tạo ra tổng thể tích (V1+V2) nếu độ nhạy của hệ thống vẫn đảm bảo.

Nếu cần ổn định dịch chiết, dịch chiết đã được pha loãng được chuyển đến quy trình S1.

A.4.4.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. Thường $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.25:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng} (g/ml) = \rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.25)$$

Trong đó:

$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$: nồng độ khối lượng của dịch chiết thô, g/ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}$ trong dịch chiết sau cùng với công thức A.26

$$\rho_{ISTD}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.26)$$

Trong đó:

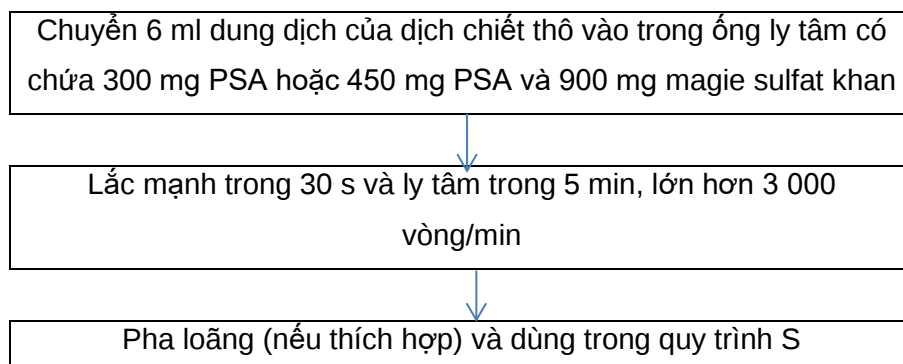
$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

A.4.4.4 Sơ đồ của quy trình C3

A.4.5 Quy trình C4: Làm sạch bằng cách chiết phân tán SPE với hỗn hợp chất hấp phụ amin (PSA) và chất hấp phụ pha đảo trên nền silica (C18)

A.4.5.1 Nguyên tắc

Quy trình làm sạch này dùng cho dịch chiết thu được bởi quy trình E2, E5 hoặc E6 để giảm lượng chất béo và làm sạch trong 1 bước. Nó có thể được sử dụng thay thế cho sự kết hợp tuần tự của các quy trình làm sạch C1 và C2, ví dụ: quả có múi, ngũ cốc, sản phẩm ngũ cốc, quả bơ và dầu oliu. Các quy trình làm sạch được đề xuất cho các nền mẫu khác được đưa ra trong Bảng 6.

Dịch chiết thô thu được từ các quy trình E2, E5 và E6 được làm sạch bằng chiết phân tán pha rắn dùng hỗn hợp chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2 (PSA) và chất hấp phụ pha đảo C18. Dịch chiết đã làm sạch được dùng để ổn định dịch chiết (quy trình S).

A.4.4.2 Cách tiến hành

6 ml dung dịch của pha axetonitril thu được từ các quy trình E2, E5 hoặc E6 được chuyển vào ống ly tâm dùng một lần polypropylen (A.2.4) có chứa 150 mg PSA (A.1.15), 150 mg C18 (A.1.16) và 900 mg magie sulfat khan (A.1.14). Đóng chặt nắp, lắc mạnh trong 30 s bằng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min. Tách và axit hóa dịch chiết đã làm sạch ngay như mô tả trong quy trình S nếu cần thiết.

Đối với 1 ml dịch chiết dùng 150 mg magie sulfat khan 25 mg PSA và 25 mg C18 nếu cần thiết.

CHÚ Ý: rất hữu ích nếu trước khi bắt đầu quá trình chiết, các ống ly tâm có sẵn chất hấp phụ chiết phân tán SPE được chuẩn bị trước hoặc có sẵn với số lượng cần thiết cho một lô mẫu.

Để giảm ảnh hưởng của nền mẫu, một phần của dịch chiết thô (V_1) có thể được pha loãng với một thể tích xác định của dung môi thích hợp (V_2) để tạo ra tổng thể tích (V_1+V_2) nếu độ nhạy của hệ thống vẫn đảm bảo.

Nếu cần ổn định dịch chiết, dịch chiết đã được pha loãng được chuyển đến quy trình S1.

A.4.5.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. Thường $\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.27:

$$\rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ sau\ cùng}(g/ml) = \rho_{mẫu}^{dịch\ chiết\ thô} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.27)$$

Trong đó:

$\rho_{mẫu}^{dịch chiết thô}$: nồng độ khối lượng của dịch chiết thô, g/ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch chiết sau cùng}$ trong dịch chiết sau cùng với công thức A.28

$$\rho_{ISTD}^{dịch chiết sau cùng} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \times \frac{V_1}{(V_1 + V_2)} \quad (A.28)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu g/ml$;

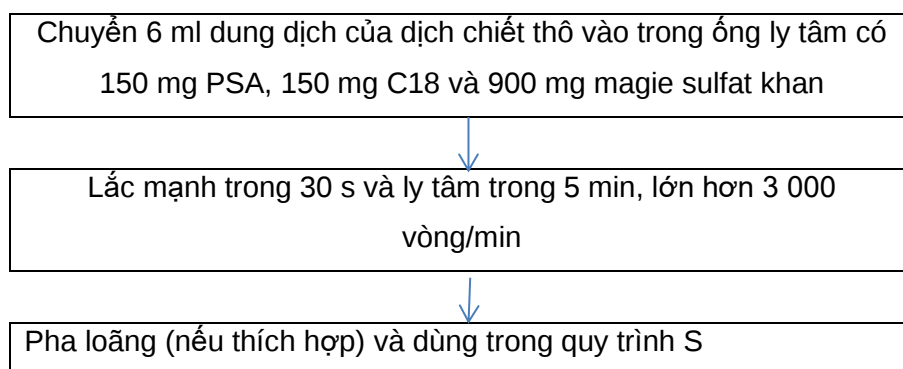
$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml;

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

A.4.5.4 Sơ đồ của quy trình C4



A.4.6 Quy trình C5: Làm sạch bằng cách chiết phân tán SPE với hỗn hợp chất hấp phụ amin (PSA) và graphit carbon

A.4.6.1 Nguyên tắc

Quy trình làm sạch này dùng cho dịch chiết thu được bởi quy trình E1 hoặc E7 đặc biệt cho việc xác định thuốc BVTV trung tính và kiềm trong dịch chiết mẫu với hàm lượng carotenoid hoặc diệp lục cao. Các quy trình làm sạch được đề xuất cho các nền mẫu khác được đưa ra trong Bảng 6.

Dịch chiết thô thu được từ các quy trình E1 hoặc E7 được làm sạch bằng chiết phân tán pha rắn (SPE) dùng hỗn hợp chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2 (PSA) và graphit carbon (GCB). Dịch chiết đã làm

sạch được dùng để ổn định dịch chiết (quy trình S).

A.4.6.2 Cách tiến hành

6 ml dung dịch của pha axetonitril thu được từ các quy trình E1 hoặc E7 được chuyển vào ống ly tâm dùng một lần polypropylen (A.2.4) có chứa 150 mg PSA (A.1.15), 900 mg magie sulfat khan (A.1.14) và 15 mg GCB (A.1.17) (quy trình C5a) hoặc 45 mg GCB (A.1.7) (quy trình C5b). Đóng chặt nắp, lắc mạnh trong 30 s bằng máy lắc (A.2.5) nếu cần thiết và ly tâm trong 5 min ở tốc độ lớn hơn 3 000 vòng/min. Tách và axit hóa dịch chiết đã làm sạch ngay như mô tả trong quy trình S nếu cần thiết.

Đối với 1 ml dịch chiết dùng 150 mg magie sulfat khan, 25 mg PSA và 2,5 mg GCB hoặc 7,5 mg GCB tùy thuộc vào mẫu nếu cần thiết.

CHÚ Ý: rất hữu ích nếu trước khi bắt đầu quá trình chiết, các ống ly tâm có sẵn chất hấp phụ chiết phân tán SPE được chuẩn bị trước hoặc có sẵn với số lượng cần thiết cho một lô mẫu.

Để giảm ảnh hưởng của nền mẫu, một phần của dịch chiết thô (V_1) có thể được pha loãng với một thể tích xác định của dung môi thích hợp (V_2) để tạo ra tổng thể tích (V_1+V_2) nếu độ nhạy của hệ thống vẫn đảm bảo.

Nếu cần ổn định dịch chiết, dịch chiết đã được pha loãng được chuyển đến quy trình S1.

A.4.5.3 Tính toán

Nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết thô $\rho_{mẫu}^{dịch chiết sau cùng}$ cho tỉ lệ của lượng mẫu, từ dư lượng được chiết và thể tích chiết. Thường $\rho_{mẫu}^{dịch chiết sau cùng}$ thường được cho bằng g/ml và được tính bởi công thức A.29:

$$\rho_{mẫu}^{dịch chiết sau cùng} (g/ml) = \rho_{mẫu}^{dịch chiết thô} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.29)$$

Trong đó:

$\rho_{mẫu}^{dịch chiết thô}$: nồng độ khối lượng của dịch chiết thô, g/ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

Tính nồng độ khối lượng của ISTD $\rho_{ISTD}^{dịch chiết sau cùng}$ trong dịch chiết sau cùng với công thức A.30

$$\rho_{ISTD}^{dịch chiết sau cùng} (\mu g/ml) = \frac{\rho_{ISTD}^{thêm} \times V_{ISTD}^{thêm}}{V_{chiết}} \times \frac{V_1}{(V_1+V_2)} \quad (A.30)$$

Trong đó:

$\rho_{ISTD}^{thêm}$: nồng độ khối lượng của dung dịch ISTD thêm vào, $\mu\text{g/ml}$;

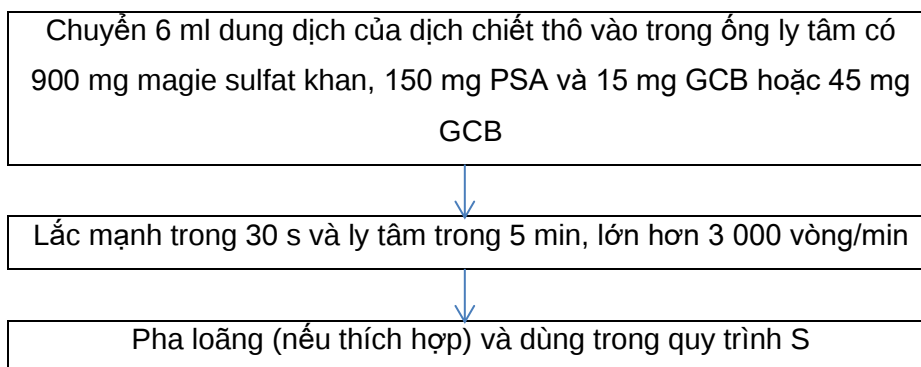
$V_{ISTD}^{thêm}$: thể tích ISTD thêm vào mẫu, ml

$V_{chiết}$: thể tích pha hữu cơ sau khi chiết (thường là 10 ml), ml;

V_1 : thể tích dịch chiết thô sử dụng, ml;

V_2 : thể tích thêm vào của dung môi thích hợp, ml.

A.4.6.4 Sơ đồ của quy trình C5



A.5 Mô tả các quy trình ổn định dịch chiết (S)

A.5.1 Quy trình S0: Không ổn định dịch chiết

A.5.1.1 Nguyên tắc

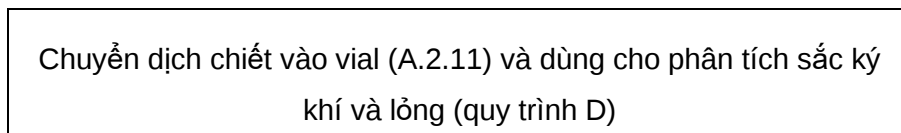
Quy trình này dùng cho dịch chiết thu được bởi các quy trình từ C0 đến C5, dùng xác định các thuốc BVTV nhạy với axit (như: flazasulfuron, mesosulfuron, tribenuron, triflusulfuron).

Dịch chiết thu được bởi các quy trình từ C0 đến C5 được chuyển đến các quy trình phát hiện (quy trình D) mà không cần xử lý.

A.5.1.2 Cách tiến hành

Dịch chiết thu được bởi các quy trình từ C0 đến C5 được chuyển đến các quy trình phát hiện (quy trình D) mà không cần xử lý. Chuyển dịch chiết vào vial (A.2.11) và dùng cho phân tích sắc ký khí và lỏng (quy trình D). Giữ dịch chiết còn lại trong tủ lạnh để dùng khi cần thiết.

A.5.1.3 Lược đồ của quy trình S0



A.5.2 Quy trình S1: Ổn định dịch chiết với axit formic

A.5.2.1 Nguyên tắc

Quy trình này dùng cho dịch chiết thu được bởi các quy trình từ C0 đến C5, dùng xác định các thuốc BVTV nhạy ổn định với axit.

Đối với các dịch chiết thu được bởi các quy trình từ C0 đến C5, thêm 10 µl dung dịch axit formic 5 % trong axetonitril/ ml và sau đó chuyển đến các quy trình phát hiện (quy trình D).

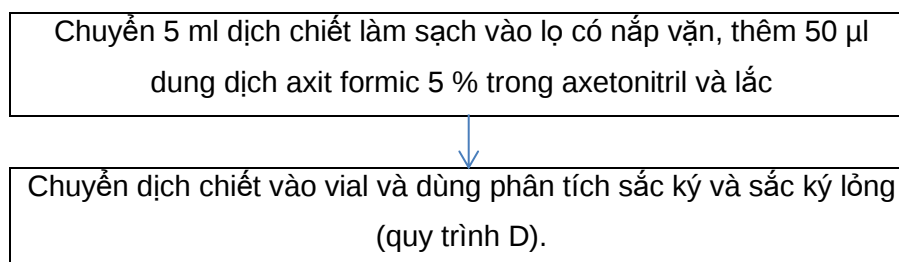
A.5.2.2 Cách tiến hành

Chuyển 5 ml dịch chiết thu được bởi các quy trình từ C0 đến C5 vào lọ có nắp vặn (A.2.12), cẩn thận để tránh các hạt chất hấp phụ bị lẫn vào và axit hóa nhẹ bằng cách thêm 50 µl dung dịch axit formic 5 % trong axetonitril (A.1.18) và lắc. Chuyển dịch chiết đã điều chỉnh pH vào vial (A.2.11) và sử dụng cho phân tích sắc ký khí và sắc ký lỏng (quy trình D). Giữ dịch chiết còn lại trong tủ lạnh để dùng khi cần thiết.

Đối với 1 ml dịch chiết cần dùng 10 µl dung dịch axit formic (A.1.18).

Ảnh hưởng của sự pha loãng gây ra bởi quá trình ổn định dịch chiết không được tính đến trong nồng độ khối lượng của mẫu trong dịch chiết sau cùng.

A.5.2.3 Lược đồ của quy trình S1



A.6 Mô tả quy trình phát hiện

A.6.1 Quy trình D1: Xác định bằng sắc ký lỏng với detector khối phổ hai lần (LC-MS/MS)

A.6.1.1 Nguyên tắc

Sắc ký lỏng detector khối phổ hai lần phù hợp với tất cả các chất phân tích được chiết bởi các quy trình từ E1 đến E9, những chất này có thể ion hóa ở áp suất khí quyển. Nên làm sạch bằng cách sử dụng một trong các quy trình từ C1 đến C5, nhưng không cần thiết trong mọi trường hợp vì độ chọn lọc cao của detector khối phổ hai lần.

A.6.1.2 Cách tiến hành

Bơm những dung dịch từ quy trình S0 hoặc S1 vào hệ thống sắc ký lỏng, được nối với detector khối phổ hai lần thông qua buồng ion hóa phun điện tử hoặc ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển APCI.

A.6.1.3 Thiết bị

Phép đo có thể sử dụng nhiều loại thiết bị, thông số thiết bị và cột. Một số thông số thiết bị và cột được liệt kê trong quy trình này. Các điều kiện hoạt động của LC-MS/MS sau đây đã cho thấy là thích hợp, nhưng chỉ là ví dụ về các điều kiện thí nghiệm trên những thiết bị đã nêu. Sự thay đổi của những điều kiện này không phải là sự sai lệch so với phương pháp.

A.6.1.4 Ví dụ về những điều kiện thích hợp

A.6.1.4.1 Hệ thống HPLC 1

Với hầu hết các hợp chất dễ dàng phân tích được bằng LC

Chương trình bơm Hút 5 µl pha động A1

Hút 1 µl mẫu

Rửa kim bơm với axetonitril

Hút 2 µl pha động A1

Hút 1 µl mẫu

Rửa kim bơm với axetonitril

Hút 2 µl pha động A1

Hút 1 µl mẫu

Rửa kim bơm với axetonitril

Hút 2 µl pha động A1

Hút 1 µl mẫu

Rửa kim bơm với axetonitril

Hút 5 µl pha động A1

Cột Phenomenex Aqua 5 µ C18 125 Å, 50 mm x 2 mm

Pha động A1 Metanol/nước 2+8 (thể tích) có hàm lượng amoni format 5 mmol/l

Pha động B1 Metanol/nước 9+1 (thể tích) có hàm lượng amoni format 5 mmol/l

Nhiệt độ cột 20 °C

Bảng A.2 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng μl/min	Pha động A1 %	Pha động B1 %
0	200	100	0
11	200	0	100
23	200	0	100
25	200	100	0
33	200	100	0

A.6.1.4.2 Hệ thống HPLC 2

Với hầu hết các hợp chất dễ dàng phân tích được bằng LC

Cột Waters Acquity UPLC BEH C18, 50 mm x 2,1 mm, kích thước hạt 1,7 μm

Pha động A1 Metanol/nước 2+8 (thể tích) có hàm lượng amoni format 5 mmol/l

Pha động B1 Metanol/nước 9+1 (thể tích) có hàm lượng amoni format 5 mmol/l

Nhiệt độ cột 20 °C

Thể tích bơm 3 μl

Bảng A.3 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng μl/min	Pha động A1 %	Pha động B1 %
0	400	100	0
6,1	400	0	100
12,7	400	0	100
13,8	400	100	0
18,2	400	100	0

A.6.1.4.3 Hệ thống HPLC 3

Với các hợp chất acid:

Cột Zorbax XDB C18, 150 mm x 2,1 mm, kích thước hạt 3,5 μm

TCVN 12848:2020

Pha động A2 Dung dịch axit axetic trong nước, 0,1 ml axit axetic pha thành 1000 ml bằng nước

Pha động B2 Dung dịch axit axetic trong axetonitril, 0,1 ml axit axetic pha thành 1000 ml bằng axetonitril

Nhiệt độ cột 40 °C

Thể tích bơm 5 µl

Bảng A.4 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng µl/min	Pha động A2 %	Pha động B2 %
0	300	80	20
20	300	0	100
22	300	0	100
22,1	300	80	20
30	300	80	20

A.6.1.4.4 Hệ thống MS/MS 1

Thiết bị MS/MS AB Sciex QTRAP 5500

Nguồn ion Turbo Ion Spray (ESI)

Bảng A.5 - Nguồn ion và các thông số chung

Khí chắn (curtain gas)	Nitơ, 40 psi	Nhiệt độ khí 2	400 °C
Khí va chạm (collision gas)	Nitơ, 2 đơn vị	Độ phân giải MS1/MS2	0,7 aum (FWHM ^a)
Điện áp phun	5 500 V	Thời gian quét lớn hơn hoặc bằng 3 ms (tùy thuộc độ nhạy MRM)	
Khí 1	Nitơ, 40 psi		
Khí 2	Nitơ, 40 psi		
^a FWHM = Bề rộng tại nửa độ cao đỉnh (khối phổ)			

A.6.1.4.5 Hệ thống MS/MS 2

Thiết bị MS/MS Agilent 6460A

Nguồn ion Jet Stream Source (ESI)

Bảng A.6 - Nguồn ion và các thông số chung

Tốc độ dòng khí làm khô	6 l/min	Nhiệt độ khí bay hơi (sheath gas)	400 °C
Nhiệt độ khí làm khô (drying gas)	325 °C	Điện áp phun (nozzle voltage)	tắt
Áp suất khí phun (nebulizer gas)	35 psi	Độ phân giải MS1/MS2	đơn vị
Điện áp mao quản	4 000 V	Thời gian quét lớn hơn hoặc bằng 3 ms (tùy thuộc độ nhạy MRM)	
Tốc độ dòng khí bay hơi (sheath gas)	12 l/min		

A.6.1.4.6 Hệ thống MS/MS 3

Thiết bị MS/MS Waters Xevo TQS

Nguồn ion Electrospray

Bảng A.7- Nguồn ion và các thông số chung

Khí chắn (curtain gas)	Nitơ, 150 l/h	Nhiệt độ solvat hóa	500-600 °C
Khí va chạm (collision gas)	Argon, 0,15 ml/min	Độ phân giải MS1/MS2 0,7 amu (FWHM ^a)	
Điện áp phun ion	800 V	Thời gian quét lớn hơn hoặc bằng 3 ms (tùy thuộc độ nhạy MRM)	
Khí 1 (phun sương)	7 bar		
Khí 2 (solvat hóa)	800-1000 l/h		
^a FWHM = Bề rộng tại nửa độ cao đỉnh (khối phổ)			

A.6.1.5 Nhận xét

Để biết các điều kiện thí nghiệm phù hợp của phương pháp phân tích bằng LC-MS/MS, xem CEN/TR 15641:2007, *Determination of pesticide residues by LC-MS/MS — Collection of mass spectrometric parameters (Xác định dư lượng thuốc BVTV bằng LC-MS/MS – Tập hợp các thông số khối phổ)*. Tuy nhiên, hiệu chỉnh riêng cho từng hợp chất trên thiết bị phân tích thường cho độ nhạy cao hơn.

Đối phương pháp phân tích LC-MS/MS, cột sắc kí pha đảo có tỷ lệ nước cao trong quá trình rửa giải đặc biệt phù hợp.

Việc sử dụng kết hợp gradient/cột cho các hợp chất phân cực cao cần pha loãng dịch chiết với nước hoặc pha động A để hình dạng pic và độ phân giải sắc ký đồ tốt. Trong những trường hợp này, cần phải xem xét việc tăng hàm lượng nước có thể gây ra sự kết tủa của các hợp chất ưa dầu, gây ra mất mát trong quá trình lọc. Do đó, nên pha loãng tự động các dung dịch bằng thiết bị bơm (xem A.6.1.4.1.).

Mặc dù tính chọn lọc cao của detector MS/MS, nên xem xét ít nhất hai lần phân mảnh của mỗi chất

phân tích để xác định chắc chắn. Cần phải xem xét trong việc lựa chọn số lần phân mảnh đồng thời để số lượng điểm đo cho một pic ít nhất là 10. Do đó, nên sử dụng thuật toán tự động (như “scheduled MRM” or “triggered MRM”) để thu được sự phân mảnh điển hình của chất phân tích xung quanh thời gian lưu dự kiến của chất phân tích.

Trong một chuỗi dung dịch chuẩn phải được bơm thường xuyên, xem thêm các yêu cầu của Quy trình kiểm soát chất lượng của EU ^[6].

A.6.2 Quy trình D2: Xác định bằng sắc ký lỏng ghép khối phổ phân giải cao (LC-khối phổ phân giải cao)

A.6.2.1 Nguyên tắc

Sắc ký lỏng detector khối phổ chính xác phù hợp với tất cả các chất phân tích được chiết bởi quy trình từ E1 đến E9, những chất có thể ion hóa ở áp suất khí quyển. Nên làm sạch bằng cách sử dụng một trong các quy trình từ C1 đến C5, nhưng không cần thiết trong mọi trường hợp vì độ chọn lọc cao của detector khối phổ hai lần.

A.6.2.2 Cách tiến hành

Bơm những dung dịch từ quy trình S0 hoặc S1 vào hệ thống sắc ký lỏng, được nối với detector khối phổ chính xác thông qua buồng ion hóa phun điện tử hoặc ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển APCI.

A.6.2.3 Thiết bị

Phép đo có thể sử dụng nhiều loại thiết bị, thông số thiết bị và cột. Một số thông số thiết bị và cột được liệt kê trong quy trình này. Các điều kiện hoạt động của LC-khối phổ phân giải cao sau đây đã cho thấy là thích hợp, nhưng chỉ là ví dụ về các điều kiện thí nghiệm trên những thiết bị đã nêu. Sự thay đổi của những điều kiện này không phải là sự sai lệch so với phương pháp.

A.6.2.4 Ví dụ về những điều kiện thích hợp

A.6.2.4.1 Hệ thống LC1

Với hầu hết các hợp chất dễ dàng phân tích được bằng LC

UHPLC	Agilent 1290 Infinity
Thể tích bơm	3 µl
Cột	Agilent Zorbax Eclipse Plus Rapid Resolution HD, 1,8 µm, 100 mm x 2,1 mm
Pha động A3	Nước có hàm lượng amoni format 5 mmol/l và axit formic 0,1 %

Pha động B3 Metanol có hàm lượng amoni format 5 mmol/l và axit formic 0,1 %

Nhiệt độ cột 30 °C

Bảng A.8 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng μl/min	Pha động A3 %	Pha động B3 %
0	300	80	20
2	300	80	20
15	300	0	100
17	300	0	100
17,1	300	80	20
19	300	80	20

A.6.2.4.2 Hệ thống LC2

Với hầu hết các hợp chất dễ dàng phân tích được bằng LC

Bơm HPLC DIONEX Ultimate 3000 RS

Bộ lấy mẫu tự động DIONEX Ultimate 3000 RS

Thể tích bơm 10 μl

Cột Thermo Scientific Acclaim RSLC 120 C18, 2,2 μm -120 Å -100 mm x 2,1 mm

Cột bảo vệ WATERS Vanguard Acquity UPLC BEH C18 1,7 μm - 2,1 × 5 mm

Pha động A4 Metanol/nước 1+9 (thể tích) có hàm lượng amoni format 5 mmol/l và axit formic 0,1 %

Pha động B4 Metanol có hàm lượng amoni format 5 mmol/l và axit formic 0,1 %

Nhiệt độ cột 30 °C

Bảng A.9 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng μl/min	Pha động A4 %	Pha động B4 %
0	200	99	1
0,1	200	99	1

Thời gian min	Tốc độ dòng μl/min	Pha động A4 %	Pha động B4 %
1	200	99	1
3	200	61	39
14	400	0,1	99,9
16	480	0,1	99,9
16,1	480	99	1
19	480	99	1
19,1	200	99	1
20	200	99	1

A.6.2.4.3 Hệ thống LC3

Bơm HPLC Dionex Ultimate 3000binary pumpHPG-3400RS

Bộ lấy mẫu tự động Dionex Ultimate 3000 RS

Cột ThermoScientific Accucore aQ C18, 100 mm x 2,1 mm, kích thước hạt 2,6 μm

Pha động A3 Nước có hàm lượng amoni format 5 mmol/l và axit formic 0,1 %

Pha động B3 Metanol có hàm lượng amoni format 5 mmol/l và axit formic 0,1 %

Nhiệt độ cột 40 °C

Bảng A.10 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng μl/min	Pha động A3 %	Pha động B3 %
0	400	80	20
1	400	80	20
10,5	400	2	98
14,5	400	2	98
15	400	80	20
19	400	80	20

A.6.2.4.4 Hệ thống LC4

UPLC Agilent 1290 Infinity

Thể tích bơm 5 μl

Cột Dionex Acclaim RSLC 120 C18 (2,2 μm; 120 Å; 2,1 mm x 100 mm)

Pha động A5 Nước có hàm lượng amoni hydroxit 5 mmol/l

Pha động B5 Axetonitril có hàm lượng axit formic 0,1%

Nhiệt độ cột 30 °C

Bảng A.11 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng ml/min	Pha động A5 %	Pha động B5 %
0	0,2	90	10
1	0,2	90	10
3	0,2	60	40
14	0,4	10	90
16	0,2	10	90
16,1	0,2	90	10
20	0,2	90	10

A.6.2.4.5 Hệ thống LC5

HPLC ACQUITT UPLC I-Class BSM

Bộ lấy mẫu tự động ACQUITT I-Class FTN

Thể tích bơm 5 µl

Cột Waters Acquity UPLC BEH C18, 100 mm x 2,1 mm, kích thước hạt 1,7 µm

Pha động A6 Nước có hàm lượng amoni format 10 mmol/l

Pha động B6 Metanol có hàm lượng amoni format 10 mmol/l

Nhiệt độ cột 45 °C

Bảng A.12 - Tốc độ dòng và gradient rửa giải

Thời gian min	Tốc độ dòng ml/min	Pha động A6 %	Pha động B6 %
0	0,45	98	2
0,25	0,45	98	2
12,25	0,45	1	99
13	0,45	1	99

Thời gian min	Tốc độ dòng ml/min	Pha động A6 %	Pha động B6 %
13,01	0,45	98	2
17	0,45	98	2

A.6.2.4.6 Hệ thống khối chính xác 1

Thiết bị khối phổ phân giải cao ABSciex TripleTOF5600+

Nguồn ion DuoSpray IonSource (ESI)

Bảng A.13 - Nguồn ion và các thông số chung

Khí nguồn ion 1	Nitơ, 30 l/min
Khí nguồn ion 2	Nitơ, 30 l/min
Khí chắn (curtain gas)	20
Nhiệt độ	400 °C
Điện áp dòng phun ion	5 000 V

A.6.2.4.7 Hệ thống khối chính xác 2

Thiết bị khối phổ phân giải cao BRUKER IMPACT II

Nguồn ion Turbo Ion Spray (ESI)

Bảng A.14 - Nguồn ion

End plate offset	500
Điện áp mao quản	2500 V
Phun sương (nebulizer)	31 psi
Khí làm khô (DryGas)	8 l/min
Nhiệt độ khí làm khô	200 °C

A.6.2.4.8 Hệ thống khối chính xác 3

Thiết bị khối phổ phân giải cao Thermo Scientific Q-Exactive

Nguồn ion Heated Electrospray Ionization Source (HESI II) ion hóa dương

Bảng A.15 - Các thông số nguồn ion

Tốc độ dòng khí bay hơi (sheath gas)	Nitơ, 45 l/min	Nhiệt độ mao quản	250 °C
--------------------------------------	----------------	-------------------	--------

Tốc độ dòng khí hỗ trợ (Aux gas)	Nitơ, 4 l/min	S-lens RF level	50
Tốc độ dòng khí quét (Sweep gas)	Nitơ, 2 l/min	Nhiệt độ khí hỗ trợ	230 °C
Điện áp phun	3,80 (kV)		

A.6.2.4.9 Hệ thống khối chính xác 4

Thiết bị khối phổ phân giải cao 6550 iFunnel QTOF LC/MS, Agilent Technologies

Nguồn ion Agilent Jet stream ESI

Bảng A.16 - Nguồn ion và các thông số chung

Khí làm khô (Drying gas)	Nitơ, 13 l/min	Nhiệt độ khí bay hơi (sheath gas)	400 °C
Tốc độ dòng khí bay hơi (sheath gas)	Nitơ, 12 l/min	Khí va chạm (Collision gas)	Nitơ, 2 đơn vị
Điện áp phun ion	4 000 V		

A.6.2.4.10 Hệ thống khối chính xác 5

Thiết bị khối phổ phân giải cao Xevo G2-S QToF (TDA 172)

Nguồn ion Z-Spray (ESI)

Bảng A.17 - Nguồn ion và các thông số chung

G2-S QToF		
Kiểu ion hóa	ESI (+)	ESI (-)
Kiểu phân tích	Sensitivity	Sensitivity
Mao quản	1,0 kV	1,5 kV
Nhiệt độ nguồn ion hóa	120 °C	120 °C
Khí côn (Nitơ)	50 l/h	10 l/h
Điện thế côn (sample cone)	40 V	40 V
Nhiệt độ solvat hóa	550 °C	350 °C
Khí solvat hóa	1000 l/h	900 h

A.6.2.5 Nhận xét

Đối với LC-khối phổ phân giải cao, cột sắc kí pha đảo có tỷ lệ nước cao trong quá trình rửa giải đặc biệt phù hợp.

Việc sử dụng kết hợp gradient/cột cho các hợp chất phân cực cao cần pha loãng dịch chiết với nước

hoặc pha động A để hình dạng pic và độ phân giải sắc ký đồ tốt. Trong những trường hợp này, cần phải xem xét việc tăng hàm lượng nước có thể gây ra sự kết tủa của các hợp chất ưa dầu, gây ra mất mát trong quá trình lọc. Do đó, nên pha loãng tự động các dung dịch bằng thiết bị bơm.

Mặc dù tính chọn lọc cao của detector MS/MS, nên xem xét ít nhất hai lần phân mảnh của mỗi chất phân tích để xác định chắc chắn. Cần phải xem xét trong việc lựa chọn số lần phân mảnh đồng thời để số lượng điểm đo cho một pic ít nhất là 10. Do đó, nên sử dụng thuật toán tự động (như “scheduled MRM” or “triggered MRM”) để thu được sự phân mảnh điển hình của chất phân tích xung quanh thời gian lưu dự kiến của chất phân tích.

Nên thực hiện đồng thời SCAN và MS/MS. Để phát hiện và xác định hai hoặc nhiều ion (tốt nhất là bao gồm ion phân tử) với khối phổ chính xác tốt hơn yêu cầu lớn hơn 5 ppm. Nếu mảnh ion được lấy ở chế độ MS/MS thì độ chính xác khối lượng chấp nhận được là nhỏ hơn 10 ppm. Để định lượng, có thể sử dụng số khối trong khoảng rộng hơn.

Trong một chuỗi dung dịch chuẩn phải được bơm thường xuyên, xem thêm các yêu cầu của Quy trình kiểm soát chất lượng của EU ^[6].

A.6.3 Quy trình D3: Xác định bằng thiết bị sắc ký khí ghép khối phổ hai lần (GC-MS/MS)

A.6.3.1 Nguyên tắc

Thiết bị sắc ký khí ghép khối phổ hai lần phù hợp với tất cả các chất phân tích được chiết bởi các quy trình từ E1 đến E7, những chất có thể bay hơi mà không bị phân hủy. Nên làm sạch bằng cách sử dụng một trong các quy trình từ C1 đến C5, nhưng không cần thiết trong mọi trường hợp vì độ chọn lọc cao của detector khối phổ hai lần.

A.6.3.2 Cách tiến hành

Bơm những dung dịch từ quy trình S0 hoặc S1 vào hệ thống sắc ký khí, được nối với detector khối phổ hai lần thông qua buồng va chạm electron. Phép đo có thể sử dụng nhiều loại thiết bị GC-MS/MS, thông số thiết bị và cột.

A.6.3.3 Thiết bị

Các điều kiện hoạt động sau của GC-MS/MS cho thấy là thích hợp, nhưng chỉ là ví dụ về các điều kiện thí nghiệm trên những thiết bị đã nêu. Sự thay đổi của những điều kiện này không phải là sự sai lệch so với phương pháp.

A.6.3.4 Ví dụ về những điều kiện thích hợp

A.6.3.4.1 Thiết bị 1

Thiết bị	ThermoFischer Scientific; TSQ Quantum XLS, Trace GC Ultra with PTV
Khí mang	Heli, 1,0 ml/min, đẳng dòng
Bộ phận bơm mẫu	Hóa hơi theo chương trình nhiệt độ (PTV) với Siltek baffled liner 2 mm ID
Kỹ thuật bơm mẫu	Không chia dòng, chương trình PTV
Thể tích bơm	1 µl, dịch chiết trong aceton/hexan (1/1, thể tích) (xem B.10)
Chương trình nhiệt độ bơm mẫu	Giữ ở 70 °C trong 0,02 min, tăng 72 °C/min đến 280 °C, giữ ở 280 °C trong 1,2 min, tăng 84 °C/min đến đạt 320 °C, giữ 6 min
Injector purge	0,0 min đến 1,3 min không purge, 1,3 min đến 6,0 min 80 ml/min (dòng làm sạch), sau 6,0 min 50 ml/min chia dòng
Cột	Cột mao quản 5 % phenyl / 95 % dimethylsiloxan, chiều dài 20 m, đường kính trong 0,18 mm, độ dày lớp phủ 0,18 µm (ví dụ Restek Rxi-5Sil MS)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 80 °C trong 1,5 min, tăng 30 °C/min đến 210 °C, tăng 20 °C/min đến 320 °C, giữ ở 320 °C trong 2 min.
Nhiệt độ giao diện ghép nối sắc ký-khối phổ	280 °C
Độ trễ của dung môi (solvent delay)	3,5 min
Ion hóa	El, 70 eV, 25 µA
Nhiệt độ nguồn ion hóa	250 °C
Độ phân giải MS1/MS2	0,7 đơn vị
Khí va chạm	Argon, $1,4 \times 10^{-3}$ Torr

Những điều kiện này được đưa ra trong Thermo Application Note 52027 ^[10]

A.6.3.4.2 Thiết bị 2

Thiết bị	Agilent GC 6890N, Kodiak 800 MS/MS
Khí mang	Heli, 21 psi, đẳng áp

Bộ phận bơm mẫu	Hóa hơi theo chương trình nhiệt độ (PTV)
Kỹ thuật bơm mẫu	Chương trình PTV với solvent delay
Thể tích bơm mẫu	3 µl
Chương trình nhiệt độ bơm mẫu	Giữ ở nhiệt độ 40 °C trong 0,8 min, tăng 72 °C/min đến khi đạt 300 °C, giữ trong 5 min
Injector purge	0,0 min đến 0,5 min 10 ml/min (vent flow), 0,5 min đến 2,5 min không purge, sau 2,5 min 50 ml/min purge flow
Cột	Cột mao quản 5 % phenyl / 95 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày lớp phủ 0,25 µm (ví dụ J&W HP5MS)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 70 °C trong 2 min, tăng 25 °C/min đến 150 °C, tăng 3 °C/min đến 180 °C, tăng 20 °C/min đến 280 °C giữ ở 280 °C trong 2 min.
Nhiệt độ giao diện ghép nối sắc ký-khối phổ	250 °C
Solvent delay	6,5 min
Ion hóa	EI, 70 eV
Nhiệt độ nguồn ion hóa	200 °C
Độ phân giải MS1/MS2	0,7 đơn vị
Khí va chạm (collision gas)	Argon, $1,4 \times 10^{-3}$ Torr

A.6.3.4.3 Thiết bị 3

Các tham số sau đây là một ví dụ cho việc sử dụng kỹ thuật ngược dòng (backflush)

Thiết bị	Agilent GC 6890N, Triplequad 7000
Khí mang	Heli
Chương trình khí mang	Khóa thời gian lưu chlorpyrifos-methyl ở 16,5 min
Chương trình backflush	Sau 41,87 min: áp suất đầu vào 1 psi, áp suất backflush 30 psi
Bộ phận bơm mẫu	Hóa hơi theo chương trình nhiệt độ (PTV)

Kĩ thuật bơm mẫu	Không chia dòng
Thể tích bơm mẫu	2 µl
Chương trình nhiệt độ bơm mẫu	Giữ ở 70 °C trong 2 min, tăng 25 °C/min đến 150 °C, tăng 3 °C/min đến 180 °C, tăng 20 °C/min đến 280 °C giữ ở 280 °C trong 10 min, giữ ở 280 °C trong 3 min (backflush)
Injector purge	0,0 min đến 0,75 min dòng septum purge 3 ml/min, 0,75 min đến 2,0 min dòng purge flow đến split vent 30 ml/min, sau 2,0 min Gas saver 20 ml/min
Cột	Cột mao quản với 5 % phenyl/95 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày lớp phủ 0,25 µm (ví dụ: DB5 MS)
Nhiệt độ cột	70 °C đẳng nhiệt trong 2 min, tăng ở 25 °C/min đến 150 °C, tăng ở 3 °C / min đến 180 °C, tăng ở 20 °C / min đến 280 °C, đẳng nhiệt ở 280 °C trong 10 min, post run (backflush) 3 min ở 280 °C
Nhiệt độ đường truyền	280 °C
Solvent delay	3,75 min
Ion hóa	EI, 70 eV
Nhiệt độ nguồn ion hóa	300 °C
Độ phân giải MS1/MS2	1,2 đơn vị
Khí khử	Heli, 2,25 ml / min
Khí va chạm	Nitơ, 1,5 ml / min
Time filterpeak width	0,7 s

A.6.3.5 Nhận xét

Để biết các điều kiện thí nghiệm phù hợp của phương pháp phân tích bằng GC-MS/MS, xem CEN/TR 16699 *Foodstuffs - Determination of pesticide residues by GC-MS/MS - Tandem mass spectrometric parameters (Thực phẩm-Xác định dư lượng thuốc BVTV bằng GC-MS/MS - Thông số khối phổ 2 lần)*^[4]. Tuy nhiên, hiệu chỉnh riêng cho từng hợp chất trên thiết bị phân tích thường cho độ nhạy cao hơn.

Đối phương pháp phân tích GC-MS/MS, cột sắc kí không phân cực đặc biệt phù hợp, ví dụ: 100 %

methysiloxane hoặc 5 % phenyl và 95 % methysiloxane.

Khi bộ phận bơm mẫu hoặc đầu cột bị nhiễm bẩn có thể gây ra sự phân hủy một phần của một số chất phân tích và thay đổi thời gian lưu. Để tránh trường hợp này, hỗn hợp bảo vệ chất phân tích phù hợp để sử dụng bao gồm D-sorbitol (99,5 %), glucono-delta-lactone, axit Shikimi và 3-ethoxy-1,2-propandiol. Hỗn hợp chất bảo vệ được pha như sau: cân 2 g 3-ethoxy-1,2-propandiol trong bình định mức 10 ml, sau đó thêm 2 ml dung dịch glucono-delta-lactone 5 %, 1 ml dung dịch D-sorbitol 5 % và 1 ml dung dịch axit Shikimi 5 %. Định mức đến 10 ml bằng dung môi acetonitril/nước (60/40, thể tích). 30 µl hỗn hợp chất bảo vệ chất phân tích được thêm vào 1 ml dịch chiết sau cùng.

Chức năng backflush được khuyến khích sử dụng. Khi sử dụng chức năng backflush, dòng bị đảo ngược sau khi rửa giải hết các chất phân tích cần quan tâm, do đó, các hợp chất ít bay hơi còn lại trên cột được thổi ngược qua cột và thoát qua ngã chia dòng. Do đó, việc thay đổi thời gian lưu và nhiễm bẩn nguồn ion có thể được giảm thiểu.

Mặc dù tính chọn lọc cao của detector MS/MS, nên xem xét ít nhất hai lần phân mảnh của mỗi chất phân tích để xác định chắc chắn. Cần phải xem xét trong việc lựa chọn số lần phân mảnh đồng thời để số lượng điểm đo cho một pic ít nhất là 10. Do đó, nên sử dụng thuật toán tự động (như “scheduled MRM” or “triggered MRM”) để thu được sự phân mảnh điển hình của chất phân tích xung quanh thời gian lưu dự kiến của chất phân tích.

Trong một chuỗi dung dịch chuẩn phải được bơm thường xuyên, xem thêm các yêu cầu của Quy trình kiểm soát chất lượng của EU ^[6].

A.6.4 Phương pháp D4: Xác định bằng sắc ký khí với detector khối phổ (GC-MS)

A.6.4.1 Nguyên tắc

Sắc ký khí với detector khối phổ tứ cực (được ưu tiên trong chế độ SIM), detector bẫy ion và detector thời gian bay (không phụ thuộc vào độ phân giải MS) phù hợp với tất cả các phân tích chiết được bằng các quy trình từ E1 đến E7, dễ bay hơi mà không bị phân hủy sau khi làm sạch bằng một trong các quy trình từ C1 đến C5. Phân tích GC-MS mà không làm sạch chỉ có thể áp dụng nếu các dịch chiết được pha loãng nhiều lần (phương pháp C0).

A.6.4.2 Cách tiến hành

Bơm những dung dịch từ quy trình S0 hoặc S1 vào hệ thống sắc ký khí, với detector khối phổ. Phép đo có thể sử dụng nhiều loại thiết bị GC-MS, thông số thiết bị và cột.

A.6.4.3 Thiết bị

Các điều kiện hoạt động sau của GC-MS cho thấy là thích hợp, nhưng chỉ là ví dụ về các điều kiện thí

nghiệm trên những thiết bị đã nêu. Sự thay đổi của những điều kiện này không phải là sự sai lệch so với phương pháp.

A.6.4.4 Ví dụ về các điều kiện thích hợp

A.6.4.4.1 Thiết bị 1

Thiết bị	Agilent GC 6890B GC/5973N MSD
Khí mang	Heli, 2,0 ml/min, đẳng dòng
Bộ phận bơm mẫu	Hệ thống bơm lạnh KAS (CIS/PTV)
Kỹ thuật bơm mẫu	Hệ thống bơm lạnh delay dung môi
Thể tích bơm mẫu	3 µl
Chương trình nhiệt độ bơm mẫu	Giữ ở 50 °C trong 0,8 min, tăng 72 °C/min đến 280 °C, giữ trong 5 min ở 280 °C, tăng 72 °C/min đến 300 °C, giữ trong 5 min ở 300 °C
Injector purge	0,0 min đến 0,5 min 20 ml/min (vent flow), 0,5 min đến 2,0 min không purge, 2,0 min đến 6,0 min 47,4 ml/min (purge flow), after 6,0 min Gas saver 20 ml/min
Cột	Cột mao quản 5 % phenyl/95 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày lớp phủ 0,25 µm (ví dụ: DB5 MS)
Nhiệt độ cột	Giữ ở nhiệt độ 40 °C trong 2,0 min, tăng 30 °C/min đến 220 °C, , tăng 5 °C/min đến 260 °C, tăng 20 °C/min đến 280 °C, giữ trong 15 min ở 280 °C
Nhiệt độ giao diện ghép nối sắc ký-khối phổ	280 °C
Solvent delay	4,0 min
Ion hóa	El, 70 eV
Nhiệt độ nguồn ion hóa	230 °C

A.6.4.4.2 Thiết bị 2

Thiết bị	Agilent GC 6890B GC/5973N MSD
Khí mang	Heli, 1,0 ml/min, đẳng dòng

Bộ phận bơm mẫu	Split/splitless
Kỹ thuật bơm mẫu	Pulsed splitless, 200 kPa, pulse time 1,0 min
Thể tích bơm mẫu	1 µl
Chương trình nhiệt độ bơm mẫu	240 °C
Injector purge	1,5 min sau khi bơm (thời gian purge) dòng purge tới van chia dòng 50 ml/min
Cột	Cột mao quản 5 % phenyl/95 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày lớp phủ 0,25 µm (ví dụ: DB5 MS)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 70 °C trong 2,0 min, tăng 25 °C/min đến 170 °C, , tăng 3 °C/min đến 210 °C, tăng 30 °C/min đến 290 °C, giữ trong 9 min ở 290 °C.
Nhiệt độ dòng	280 °C
Solvent delay	6,0 min
Ion hóa	El, 70 eV
Nhiệt độ nguồn ion hóa	230 °C

A.6.4.5 Nhận xét

Để biết thời gian lưu và các mảnh ion đặc trưng, xem CEN/TR 16468, *Food analysis - Determination of pesticide residues by GC-MS - Retention times and mass spectrometric parameters (Phân tích thực phẩm - Xác định dư lượng thuốc BVTV bằng GC-MS-Thời gian lưu và các thông số khối phổ)*[5].

Đối với phương pháp phân tích GC-MS, cột sắc kí không phân cực đặc biệt phù hợp, ví dụ: 100 % methylsiloxane hoặc 5 % phenyl và 95 % methylsiloxane. Để xác nhận những chất phân cực sử dụng cột có độ phân cực cao hơn, ví dụ: 50 % phenyl- và 50 % methylsiloxane hoặc 14 % cyanopropylphenyl- và 86 % methylsiloxane.

Khi bộ phận bơm mẫu hoặc đầu cột bị nhiễm bẩn có thể gây ra sự phân hủy một phần của một số chất phân tích và thay đổi thời gian lưu. Để tránh trường hợp này, hỗn hợp bảo vệ chất phân tích phù hợp để sử dụng bao gồm D-sorbitol (99,5 %), glucono-delta-lactone, axit Shikimi và 3-ethoxy-1,2-propandiole. Hỗn hợp chất bảo vệ được pha như sau: cân 2 g 3-ethoxy-1,2-propandiole trong bình định

mức 10 ml, sau đó thêm 2 ml dung dịch glucono-delta-lactone 5 %, 1 ml dung dịch D-sorbitol 5 % và 1 ml dung dịch axit Shikimi 5 %. Định mức đến 10 ml bằng dung môi acetonitril/nước (60/40, thể tích). 30 µl hỗn hợp chất bảo vệ chất phân tích được thêm vào 1 ml dịch chiết sau cùng.

Chức năng backflush được khuyến khích sử dụng. Khi sử dụng chức năng backflush, dòng bị đảo ngược sau khi rửa giải hết các chất phân tích cần quan tâm, do đó, các hợp chất ít bay hơi còn lại trên cột được thổi ngược qua cột và thoát qua ngã chia dòng. Do đó, việc thay đổi thời gian lưu và nhiễm bẩn nguồn ion có thể được giảm thiểu.

Để xác định các hợp chất sử dụng khối phổ một lần chọn lọc ion (SIM) nhạy hơn quét toàn dãy phổ. Trong chế độ SIM, yêu cầu ít nhất 3 ion khối lượng để định danh chắc chắn chất phân tích. Cần phải xem xét trong việc lựa chọn số lần phân mảnh đồng thời để số lượng điểm đo cho một pic ít nhất là 10.

Nếu việc đánh giá định lượng của một pic chất phân tích bị ảnh hưởng của những pic của những hợp chất cộng chiết thì dung dịch chuẩn của chất phân tích trong cùng nền mẫu không có dư lượng nên được đo để so sánh.

Trong một chuỗi dung dịch chuẩn phải được bơm thường xuyên, xem thêm các yêu cầu của Quy trình kiểm soát chất lượng của EU ^[6].

A.6.5 Phương pháp D5: Xác định bằng sắc ký khí với detector quang hóa ngọn lửa (GC-FPD)

A.6.5.1 Nguyên tắc

Sắc ký khí với detector quang hóa ngọn lửa phù hợp với tất cả các phân tích có chứa phospho và lưu huỳnh chiết được bằng các quy trình từ E1 đến E7, dễ bay hơi mà không bị phân hủy sau khi làm sạch bằng một trong các quy trình từ C1 đến C5. Phân tích GC-FPD mà không làm sạch chỉ có thể áp dụng nếu các dịch chiết được pha loãng nhiều lần (phương pháp C0).

A.6.5.2 Cách tiến hành

Bơm những dung dịch từ quy trình S0 hoặc S1 vào hệ thống sắc ký khí quang hóa ngọn lửa. Phép đo có thể sử dụng nhiều loại thiết bị GC và cột.

A.6.5.3 Thiết bị

Các điều kiện hoạt động sau của GC cho thấy là thích hợp, nhưng chỉ là ví dụ về các điều kiện thí nghiệm trên những thiết bị đã nêu. Sự thay đổi của những điều kiện này không phải là sự sai lệch so với phương pháp.

A.6.5.4 Ví dụ về các điều kiện thích hợp

A.6.5.4.1 Thiết bị 1

Thiết bị	Agilent GC 5890
Khí mang	Heli, 8,0 ml/min, đẳng dòng
Bộ phận bơm mẫu	Chia dòng/không chia dòng
Kỹ thuật bơm mẫu	60 giây không chia dòng, sau đó chia dòng tỉ lệ 1:10
Thể tích bơm mẫu	3 µl
Nhiệt độ bơm mẫu	250 °C
Cột	Cột mao quản 14 % cyanopropylphenyl/86 % dimethylploysiloxane, chiều dài 15 m, đường kính trong 0,53 mm, độ dày lớp phủ 1,0 µm (ví dụ: DB 1701)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 60 °C trong 2,0 min, tăng 10 °C/min đến 260 °C, giữ ở 260 °C trong 10 min.
Detector	FPD với bộ lọc phospho hoặc lưu huỳnh
Nhiệt độ detector	240 °C
Detector gas	14 ml/min Heli, 75 ml/min hydro, 120 ml/min không khí

A.6.5.4.2 Thiết bị 2

Thiết bị	Fisons MEGA 5300
Khí mang	Heli, 3,0 ml/min, đẳng dòng
Bộ phận bơm mẫu	Chia dòng/không chia dòng
Kỹ thuật bơm mẫu	90 giây không chia dòng, sau đó chia dòng tỉ lệ 1:20
Thể tích bơm mẫu	2 µl
Nhiệt độ bơm mẫu	250 °C
Cột	Cột mao quản 50 % phenyl/50 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm, độ dày lớp phủ 0,25 µm (ví dụ: DB-17)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 70 °C trong 2,0 min, tăng 30 °C/min đến 130 °C, tăng 50 °C/min đến 250 °C, tăng 1 °C/min đến 260 °C giữ ở 260 °C trong 12 min.

Detector	FPD với bộ lọc phospho hoặc lưu huỳnh
Nhiệt độ detector	130 °C
Khí detector	25 ml/min Heli, 100 ml/min hydro, 25 ml/min oxy

Phân tích GC-FPD được sử dụng cho các hợp chất hữu cơ chứa phospho có độ phân cực trung bình. Detector FPD cũng được áp dụng cho các chất phân tích có chứa lưu huỳnh hoặc thiếc. Sử dụng FPD để định lượng các chất phân tích có chứa lưu huỳnh, phải xem xét rằng không có mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ và tín hiệu.

Đối với bơm không chia dòng, nhiệt độ bắt đầu của buồng bơm mẫu nên thấp hơn khoảng 20 °C so với điểm sôi của dung môi của dịch chiết sau cùng.

Khi bộ phận bơm mẫu hoặc đầu cột bị nhiễm bẩn có thể gây ra sự phân hủy một phần của một số chất phân tích và thay đổi thời gian lưu. Việc sử dụng hỗn hợp chất bảo vệ chất phân tích trong GC với các cột có độ phân cực trung bình cho đến nay vẫn chưa được biết đến.

Trong một chuỗi dung dịch chuẩn phải được bơm thường xuyên, xem thêm các yêu cầu của Quy trình kiểm soát chất lượng của EU [6].

Chức năng backflush được khuyến khích sử dụng. Khi sử dụng chức năng backflush, dòng bị đảo ngược sau khi rửa giải hết các chất phân tích cần quan tâm, do đó, các hợp chất ít bay hơi còn lại trên cột được thổi ngược qua cột và thoát qua ngã chia dòng. Do đó, việc thay đổi thời gian lưu và nhiễm bẩn nguồn ion có thể được giảm thiểu.

A.6.6 Phương pháp D6: Xác định bằng sắc ký khí với detector cộng kết điện tử (GC-ECD)

A.6.6.1 Nguyên tắc

Sắc ký khí với detector cộng kết điện tử phù hợp với các hợp chất clo hữu cơ và pyrethroid chiết xuất được bằng quy trình từ E1 đến E7, dễ bay hơi mà không bị phân hủy sau khi làm sạch bằng cách sử dụng một trong các quy trình từ C1 đến C5. Chuyển dung môi của chiết xuất cuối cùng là rất khuyến khích.

A.6.6.2 Cách tiến hành

Bơm những dung dịch từ quy trình sau khi chuyển dung môi (ví dụ: trong toluene) vào hệ thống sắc ký khí, với detector bắt giữ điện tử. Phép đo có thể sử dụng nhiều loại thiết bị GC và cột.

A.6.6.3 Thiết bị

Các điều kiện hoạt động sau của GC cho thấy là thích hợp, nhưng chỉ là ví dụ về các điều kiện thí

nghiệm trên những thiết bị đã nêu. Sự thay đổi của những điều kiện này không phải là sự sai lệch so với phương pháp.

A.6.6.4 Ví dụ về các điều kiện thích hợp

A.6.6.4.1 Thiết bị 1

Thiết bị	Agilent GC 6890
Khí mang	Heli, 1,0 ml/min, đẳng dòng
Bộ phận bơm mẫu	Chia dòng/không chia dòng
Kỹ thuật bơm mẫu	Pulsed slitless, 200 kPa, pulse time 1,0 min
Thể tích bơm mẫu	1 µl
Nhiệt độ bơm mẫu	240 °C
Injector purge	1,5 min sau khi bơm (thời gian xung) dòng purge tới van chia dòng 50 ml/min
Cột	Cột mao quản 5 % phenyl/95 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày lớp phủ 0,25 µm (ví dụ: HP5 MS)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 70 °C trong 2,0 min, tăng 25 °C/min đến 170 °C, tăng 3 °C/min đến 210 °C, tăng 30 °C/min đến 290 °C giữ ở 290 °C trong 9 min.
Detector	⁶³ Ni-ECD
Nhiệt độ detector	300 °C
Khí bổ trợ ECD	Nitơ, 70 ml/min
Khí purge anod ECD	Nitơ, 6 ml/min

A.6.6.4.2 Thiết bị 2

Thiết bị	Agilent GC 7890A
Khí mang	Heli, tốc độ trung bình 35 cm/s ở 80 °C
Bộ phận bơm mẫu	Chia dòng/không chia dòng
Kỹ thuật bơm mẫu	Không chia dòng

Thể tích bơm mẫu	1 μ l
Nhiệt độ bơm mẫu	250 °C
Injector purge	0,5 min sau khi bơm (thời gian purge) dòng purge tới van chia dòng 60 ml/min
Cột	Retention gap (ống mao quản silica khử hoạt tính) dài 5 m, đường kính trong 0,32 mm nối với cột mao quản 35 % phenyl/65 % dimethylsiloxane, chiều dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm, độ dày lớp phủ 0,25 μ m (ví dụ: HP5 MS)
Nhiệt độ cột	Giữ ở 80 °C trong 0,5 min, tăng 26 °C/min đến 175 °C, tăng 6,5 °C/min đến 235 °C, tăng 15 °C/min đến 300 °C giữ ở 300 °C trong 6 min.
Detector	μ ECD
Nhiệt độ detector	340 °C
Khí hỗ trợ	Nitơ, 30 ml/min

Những điều kiện này được đưa ra trong Agilent Application Note 5990-9735EN (xem <http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5990-9735EN.pdf>)

Để biết thời gian lưu và tín hiệu tương đối của các thuốc BVTV, xem CEN/TR 16468 *Food analysis - Determination of pesticide residues by GC-MS - Retention times and mass spectrometric parameters* (Phân tích thực phẩm - Xác định dư lượng thuốc BVTV bằng GC-MS - Thời gian lưu và các thông số khối phổ)[5].

Đối với bơm không chia dòng, nhiệt độ bắt đầu của buồng bơm mẫu nên thấp hơn khoảng 20 °C so với điểm sôi của dung môi của dịch chiết sau cùng.

Khi bộ phận bơm mẫu hoặc đầu cột bị nhiễm bẩn có thể gây ra sự phân hủy một phần của một số chất phân tích và thay đổi thời gian lưu. Việc sử dụng hỗn hợp chất bảo vệ chất phân tích trong GC với các cột có độ phân cực trung bình cho đến nay vẫn chưa được biết đến.

Trong một chuỗi dung dịch chuẩn phải được bơm thường xuyên, xem thêm các yêu cầu của Quy trình kiểm soát chất lượng của EU [6].

Chức năng backflush được khuyến khích sử dụng. Khi sử dụng chức năng backflush, dòng bị đảo ngược sau khi rửa giải hết các chất phân tích cần quan tâm, do đó, các hợp chất ít bay hơi còn lại trên cột được thổi ngược qua cột và thoát qua ngã chia dòng. Do đó, việc thay đổi thời gian lưu và

nhiễm bẩn nguồn ion có thể được giảm thiểu.

A.7 Các phương pháp định lượng

A.7.1 Phương pháp 1: Định lượng bằng ngoại chuẩn trong dung môi

A.7.1.1 Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ của chất phân tích trong dịch chiết sau cùng được thực hiện bằng cách so sánh với chuẩn trong dung môi đã biết trước nồng độ. Các nhận xét chung về quy trình và tính toán đường chuẩn được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.1 và 4.2)

Phương pháp định lượng này được áp dụng nếu không có sự thay đổi cường độ tín hiệu xảy ra trong một chuỗi các mẫu phân tích, nếu không sai số trong quá trình chiết, làm sạch, sai số trong phép đo và có thể loại trừ ảnh hưởng từ nền mẫu (xem Bảng 5).

A.7.1.2 Cách tiến hành

Các dung dịch chuẩn có nồng độ khác nhau được tạo ra bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc trong dung môi thích hợp. Các dung dịch này được phân tích bằng sắc ký cùng với dịch chiết của mẫu. Diện tích pic (hoặc chiều cao) của chất phân tích trong dung dịch chuẩn và dịch chiết mẫu được xác định. Sau khi lập đường chuẩn (xem CEN/TS 17061:2017, 4.4.2 đến 4.4.5), nồng độ của chất phân tích trong dịch chiết mẫu ρ_A được tính toán.

A.7.1.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng chất phân tích trong mẫu dựa trên ρ_A như phần 6.3 đã trình bày.

A.7.2 Phương pháp 2: Định lượng bằng ngoại chuẩn trong nền mẫu

A.7.2.1 Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ chất phân tích trong dịch chiết sau cùng được thực hiện bằng cách so sánh với các dung dịch chuẩn trong nền mẫu không chứa chất dư lượng và đã biết trước nồng độ. Các nhận xét chung về quy trình và tính toán đường chuẩn được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.1, 4.2 và 4.3 (để kiểm tra ảnh hưởng của nền).

Phương pháp định lượng này sẽ được áp dụng nếu không có sự thay đổi cường độ tín hiệu xảy ra trong một chuỗi các mẫu phân tích, không mất mát trong quá trình chiết, làm sạch, sai số trong phép đo và không thể loại trừ các ảnh hưởng từ nền mẫu.

A.7.2.2 Cách tiến hành

Các dung dịch chuẩn có nồng độ khác nhau được tạo ra bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc

bằng dung dịch chiết sau cùng của mẫu không chứa chất phân tích. Một cách khác để chuẩn bị các dung dịch chuẩn trong nền là bay hơi cho đến khi khô một thể tích dịch chiết của mẫu không chứa dư lượng dưới dòng nitơ nhẹ và định mức lại với cùng một thể tích của chuẩn trong dung môi. Các dung dịch này được phân tích bằng sắc ký cùng với dịch chiết của mẫu. Diện tích pic (hoặc chiều cao) của chất phân tích trong các dung dịch chuẩn và dịch chiết mẫu được xác định. Sau đó lập đường chuẩn (xem CEN/TS 17061:2017, 4.4.2 đến 4.4.5) nồng độ của chất phân tích trong dịch chiết mẫu ρ_A được tính toán.

A.7.2.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng chất phân tích trong mẫu dựa trên ρ_A như phần 6.3 đã trình bày.

A.7.3 Phương pháp 3: Định lượng bằng nội chuẩn và chuẩn trong dung môi

A.7.3.1 Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ của chất phân tích trong dịch chiết sau cùng được thực hiện bằng cách so sánh với các dung dịch chuẩn trong dung môi đã biết trước nồng độ và chứa một lượng nội chuẩn nhất định. Các nhận xét chung về quy trình và tính toán đường chuẩn bằng cách sử dụng nội chuẩn được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.5.

Phương pháp định lượng này sẽ được áp dụng nếu có sai số trong quá trình chiết và làm sạch hoặc sai số trong phép đo và có thể loại trừ các ảnh hưởng nền.

A.7.3.2 Cách tiến hành

Các dung dịch chuẩn phân tích có nồng độ khác nhau được tạo ra bằng cách pha loãng các thể tích dung dịch chuẩn gốc khác nhau và thể tích dung dịch chuẩn nội không đổi thành một thể tích xác định bằng dung môi thích hợp. Các dung dịch này được phân tích bằng sắc ký cùng với dịch chiết của các mẫu. Diện tích pic (hoặc chiều cao) của chất phân tích trong dung dịch chuẩn và dịch chiết mẫu được xác định. Tính nồng độ chất phân tích trong dịch chiết mẫu ρ_A sau khi chọn đường chuẩn thích hợp theo CEN/TS 17061: 2017, 4.5.1.

A.7.3.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng chất phân tích trong mẫu dựa trên ρ_A như phần 6.3 đã trình bày.

A.7.4 Phương pháp 4: Định lượng bằng phương pháp thêm chuẩn vào dịch chiết sau cùng

A.7.4.1 Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ chất phân tích trong dịch chiết sau cùng được thực hiện bằng cách so sánh tín hiệu chất phân tích trong dịch chiết sau cùng với tín hiệu chất phân tích của dịch chiết sau cùng đã

thêm lượng chất phân tích đã biết. Các nhận xét chung về quy trình và tính toán đường chuẩn được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.6.3.

Phương pháp định lượng này sẽ được áp dụng nếu chỉ có ảnh hưởng nền và không có sẵn mẫu không có dư lượng. Việc áp dụng phương pháp này giả định mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ chất phân tích và tín hiệu phát hiện bởi hệ thống.

A.7.4.2 Cách tiến hành

Thêm một lượng chất phân tích xác định vào phần của dịch chiết sau cùng. Tất cả các phần mẫu được định mức đến cùng một thể tích bằng dung môi. Các dung dịch cuối cùng thu được có nồng độ khác nhau được thực hiện sắc ký cùng với dung dịch chiết không thêm chuẩn của mẫu. Các diện tích pic (hoặc chiều cao) của các chất phân tích trong dịch chiết không thêm chuẩn và có thêm chuẩn được xác định (xem CEN/TS 17061:2017, 4.6.2). Sử dụng đường hồi quy có thể xác định được khối lượng của chất phân tích trong dịch chiết.

A.7.4.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng của chất phân tích trong mẫu có thể được thực hiện như trong CEN/TS 17061:2017, 4.6.2.

A.7.5 Phương pháp 5: Định lượng bằng nội chuẩn và chuẩn trong nền hoặc nội chuẩn là đồng vị

A.7.5.1 Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ của chất phân tích được xác định trong dịch chiết sau cùng được thực hiện bằng cách so sánh với các dung dịch chuẩn nồng độ đã biết trong nền mẫu không chứa chất phân tích, có chứa một lượng nội chuẩn không đổi. Nhận xét chung về quy trình và tính toán được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.5.

Việc sử dụng một nội chuẩn là đồng vị, chỉ khác ở đồng vị với phân tử chất phân tích, là một trường hợp đặc biệt. Ảnh hưởng nền nói chung được loại bỏ tốt do đó không cần thiết phải sử dụng nền mẫu không chứa chất phân tích.

Phương pháp định lượng này sẽ được áp dụng nếu tồn tại trong quá trình chiết và làm sạch hoặc sai số trong phép đo hoặc không loại bỏ được ảnh hưởng nền.

A.7.5.2 Cách tiến hành

Các dung dịch chuẩn phân tích có nồng độ khác nhau được tạo ra bằng cách pha loãng các thể tích dung dịch chuẩn gốc khác nhau và thể tích dung dịch chuẩn nội không đổi thành thể tích xác định bằng dịch chiết nền mẫu không chứa chất phân tích. Các dung dịch này được thực hiện sắc ký cùng với chiết xuất của các mẫu. Diện tích pic (hoặc chiều cao) của chất phân tích trong dung dịch chuẩn và

dịch chiết mẫu được xác định. Sau khi chọn đường chuẩn thích hợp (xem CEN/TS 17061:2017, 4.5.1) nồng độ chất phân tích trong dịch chiết mẫu wA có thể được tính toán.

Nếu các nội chuẩn là đồng vị được sử dụng, một thể tích không đổi của dung dịch nội chuẩn là đồng vị và thể tích thay đổi của dung dịch chuẩn gốc trong dung môi được định mức đến một thể tích xác định.

A.7.5.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng chất phân tích trong mẫu có thể được thực hiện trên cơ sở ρ_A như được nêu trong 6.3.

Nếu sử dụng các nội chuẩn là đồng vị, việc tính toán được đơn giản hóa theo cách mà kiến thức về thể tích dung môi chiết, các yếu tố pha loãng, ảnh hưởng nền mẫu,...thì không cần thiết. Phần khối lượng của chất phân tích wA có thể được lấy trực tiếp từ đường chuẩn bằng khối lượng mẫu đã biết. Một thể tích không đổi của dung dịch chuẩn nội có đồng vị và thể tích thay đổi của dung dịch phân tích gốc trong dung môi được định mức đến một thể tích xác định. Việc tính toán dư lượng của chất phân tích trong mẫu có thể được thực hiện như trong CEN/TS 17061: 2017, 4.5.2 và 4.5.3.

A.7.6 Phương pháp 6: Định lượng bằng phương pháp thêm chuẩn vào mẫu

A.7.6.1 Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ chất phân tích trong mẫu được thực hiện bằng cách so sánh tín hiệu chất phân tích trong dịch chiết sau cùng của mẫu với tín hiệu chất phân tích của dịch chiết sau cùng của cùng mẫu đã thêm lượng chất phân tích đã biết. Trong trường hợp này, lượng chất phân tích đã biết được thêm vào mẫu trước khi chiết. Nhận xét chung về quy trình và tính toán được đưa ra trong CEN/TS 17061: 2017, 4.6.1.

Việc áp dụng phương pháp này giả định mối quan hệ tuyến tính giữa nồng độ chất phân tích và tín hiệu trong hệ thống phát hiện. Phương pháp định lượng này sẽ được áp dụng khi xảy ra sự mất mát của chất phân tích trong quá trình chiết và làm sạch hoặc nếu có sự thay đổi trong phép đo phải được bù và nếu không có nền mẫu không chứa chất phân tích.

A.7.6.2 Cách tiến hành

Trước khi chiết, lượng đã biết của chất phân tích được thêm vào phần mẫu thử. Sau đó, các phần thử nghiệm không thêm chuẩn và thêm chuẩn của mẫu được thực hiện theo toàn bộ quy trình phân tích. Các diện tích pic (hoặc chiều cao) của các chất phân tích trong các mẫu không thêm chuẩn và thêm chuẩn được xác định và vẽ (xem CEN/TS 17061:2017, 4.6.3). Sử dụng đường hồi quy có thể xác định được lượng chất phân tích trong mẫu.

A.7.6.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng của chất phân tích trong mẫu có thể được thực hiện như được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.6.3.

A.7.7 Phương pháp 7: Định lượng bằng cách hiệu chuẩn toàn bộ quy trình

A.7.7.1. Nguyên tắc

Việc xác định nồng độ chất phân tích được xác định trong dịch chiết sau cùng được thực hiện bằng cách so sánh tín hiệu chất phân tích trong dịch chiết sau cùng của mẫu với tín hiệu chất phân tích của dịch chiết sau cùng của mẫu hiệu chuẩn. Các mẫu và mẫu hiệu chuẩn được thực hiện theo toàn bộ quy trình phân tích. Nhận xét chung về quy trình và tính toán được đưa ra trong CEN/TS 17061:2017, 4.7.

Phương pháp định lượng này sẽ được áp dụng nếu các kết quả chính hoặc thấp hơn có hệ thống phải được bù, nếu hiệu ứng ma trận phải được bù và nếu không có sẵn mẫu không có dư lượng.

A.7.7.2 Cách tiến hành

Trước khi chiết, thêm lượng chất phân tích vào các phần thử của mẫu hiệu chuẩn. Sau đó, các mẫu và các phần thử nghiệm đã thêm chuẩn của các mẫu hiệu chuẩn được thực hiện theo toàn bộ quy trình phân tích. Diện tích pic (hoặc chiều cao) của các chất phân tích trong các mẫu và mẫu hiệu chỉnh đã thêm chuẩn được xác định. Sau khi chọn đường chuẩn thích hợp (xem CEN/TS 17061:2017, 4.4.3 đến 4.4.4) nồng độ của chất phân tích trong trích xuất mẫu ρ_A có thể được tính.

A.7.7.3 Tính toán

Việc tính toán dư lượng chất phân tích trong mẫu có thể được thực hiện trên cơ sở ρ_A như được nêu trong 6.3.

Phụ lục B
(Tham khảo)
Thông tin bổ sung

B.1 Tổng quát

Phương pháp này (QuEChERS) được xuất bản lần đầu tiên bởi M. Anastassiades và các cộng sự [8] vào năm 2003 và sau đó được sửa đổi thành quy trình tự hiện tại để mở rộng phổ của chất phân tích và nền mẫu.

B.2 Chuẩn bị hỗn hợp muối-đệm (A.1.8)

Nếu không sử dụng các hỗn hợp muối-đệm có sẵn trên thị trường, việc chuẩn bị một số phần của hỗn hợp này rất hữu ích khi sử dụng một bộ chia mẫu.

B.3 Thuốc thử để làm sạch

Nếu không sử dụng các ống ly tâm có sẵn thuốc thử dùng làm sạch, thì nên chuẩn bị tất cả các ống ly tâm cần thiết để làm sạch trước khi chiết. Việc sử dụng một bộ chia mẫu là hữu ích trong trường hợp đó.

B.4 Kéo dài thời gian chiết

Thời gian chiết kéo dài lên 15 min hoặc hơn để đạt được hiệu quả chiết tốt hơn. Khi sử dụng thời gian chiết được đề xuất ban đầu (lắc) là 1 min cho các mẫu đông lạnh, người ta nhận thấy rằng một số loại thuốc BVTV cho hiệu suất chiết thấp. Nên tránh thời gian chiết lớn hơn 60 min để giảm phân hủy chất phân tích kém bền.

B.5 Phân tích không nội chuẩn

Để làm rõ mức độ giảm thể tích và ảnh hưởng của các nền mẫu đến sự tách pha, ba phòng thí nghiệm với những thí nghiệm đặc biệt đã được tiến hành. Mười lăm loại thực phẩm khác nhau có nguồn gốc thực vật (bao gồm cả chè và bột mì) đã được nhiễm 20 loại thuốc BVTV. Các dung dịch chiết được phân tích bởi LC-MS/MS mà không cần làm sạch, sau khi đã pha loãng đủ để loại trừ các ảnh hưởng nền. Hiệu suất thu hồi không phụ thuộc vào thể tích của pha axetonitril (dao động từ 7,0 ml đến 10,5 ml). Giữa pha axetonitril và nước có chứa các phần thực vật rắn lớn hơn 5 ml trong một số trường hợp (ví dụ như bơ, chanh, chè, bột mì). Tuy nhiên, hiệu suất thu hồi trung bình của tất cả các loại thuốc BVTV trong một nền mẫu của một phòng thí nghiệm dao động trong khoảng 77 % đến 114 %. Xem xét giá trị trung bình của cả ba phòng thí nghiệm, ngoại trừ hai nền (bơ, chè) hiệu suất thu hồi trung bình là trong khoảng 97 % đến 103 %. Các thí nghiệm đã chứng minh rằng việc sử dụng nội

chuẩn không cần phải có thể tích chiết chính xác là 10 ml.

B.6 Tỷ lệ

Trong các quy trình chiết, khối lượng của phần mẫu thử được cố định (ví dụ 10 g, 5 g hoặc 2 g). Lượng này đủ để chuẩn bị 6 ml dịch chiết thô được sử dụng trong quy trình làm sạch. Các bước chiết và làm sạch có thể mở rộng theo mong muốn, miễn là lượng thuốc thử được sử dụng vẫn giữ nguyên tỷ lệ. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng lượng mẫu sử dụng càng nhỏ thì sai số của mẫu sẽ càng cao. Do đó, trong quá trình xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp mỗi phòng thí nghiệm nên nghiên cứu sự thay đổi mẫu đạt được khi những thiết bị có sẵn, sử dụng các mẫu đại diện có chứa dư lượng phát sinh.

B.7 Điều chỉnh giá trị pH

Bằng cách thêm các muối đệm citrate (A.1.8) trong quá trình chiết, hầu hết các mẫu đều đạt được giá trị pH trong khoảng từ 5 đến 5,5. Phạm vi pH này thích hợp để chiết và định lượng thuốc diệt cỏ có tính axit, các hợp chất không bền trong môi trường kiềm (ví dụ captan, folpet, tolylfluanid) cũng như không bền trong môi trường acid (ví dụ như các hợp chất pymetrozine, dioxacarb)..

Sau khi tiếp xúc với PSA (A.1.15), độ pH của dịch chiết tăng lên lớn hơn 8. Điều này có thể làm giảm tính ổn định của thuốc BVTV nhạy với baz (ví dụ: captan, folpet, dichlofluanid, tolylfluanid, pyridate, methiocarb sulfon, chlorothalonil). Nếu các chất chiết xuất được axit hóa nhanh chóng đến pH 5, sự phân hủy của các hợp chất đó sẽ giảm đáng kể để có thể lưu trữ trong nhiều ngày. Ở pH này, thuốc BVTV không bền axit (ví dụ như pymetrozine, dioxacarb, thiodicarb) cũng đủ ổn định trong vài ngày .

Chỉ một số loại thuốc diệt cỏ sulfonyl urea rất nhạy, carbosulfan và benfuracarb đã được chứng minh là không được bảo vệ đầy đủ ở pH 5. Tuy nhiên, các hợp chất này đã được chứng minh là ổn định ở pH của dịch chiết không axit (sau khi chiết phân tán SPE) trong vài ngày. Nếu các hợp chất này nằm trong phạm vi phân tích, nên sử dụng một phần của dịch chiết không axit hóa để đo. Nếu phép đo có thể được thực hiện nhanh chóng, thì cũng có thể sử dụng dịch chiết ở pH 5. Tuy nhiên cần chú ý sulfonylurea có tính axit nhất có thể bị mất trong quá trình làm sạch PSA. Chúng có thể được phân tích cùng với thuốc BVTV có tính axit trực tiếp từ dịch chiết xuất thô (6.3 và A.4).

B.8 Nghiên cứu hiệu suất thu hồi

Đối với các nghiên cứu hiệu suất thu hồi ví dụ: 10 g mẫu được thêm 100 µl dung dịch thuốc BVTV trong axetonitril hoặc axeton. Lắc nhanh bằng máy trộn Vortex (A.2.13) có thể giúp phân tán dung môi và thuốc BVTV tốt trong mẫu. Phải tránh sử dụng thể tích dung dịch chuẩn lớn hơn (ví dụ: lớn hơn 200 µl). Nếu không có thể, thể tích này được bù bằng mẫu trắng dùng để chuẩn bị dung dịch chuẩn trong nền mẫu, để tránh sự khác biệt về nồng độ của nền trong dịch chiết sau cùng.

B.9 Làm sạch với GCB

Cần phải tính đến, một số thuốc BVTV và ISTD có ái lực mạnh với cấu trúc phẳng của GCB. Nhưng các nghiên cứu hiệu suất thu hồi cho thấy không có sự mất mát đáng kể nào xảy ra nếu dịch chiết, sau khi phân tán SPE với GCB, vẫn duy trì một lượng chlorophyll hoặc carotinoid. Anthracene (hoặc d10-Anthracen) có thể được sử dụng như chuẩn QC (xem Bảng 1). Nếu lượng anthracen thu hồi trên 70 %, điều này cũng đúng đối với những thuốc BVTV cấu trúc phẳng có ái lực cao nhất đối với carbon.

B.10 Nồng độ của dịch chiết sau cùng và thay đổi dung môi

Nếu không bơm thể tích lớn (3 μ l trở lên) và giới hạn phát hiện mong muốn của các hợp chất phân tích không thể đạt được, cần phải quan tâm đến nồng độ của các dịch chiết sau cùng và thay đổi dung môi nếu cần thiết. Nếu sử dụng GC/MSD, dịch chiết làm giàu 4 lần là đủ. Để đạt được điều này, ví dụ 4 ml chiết axit (pH 5) được chuyển vào một ống nghiệm và giảm xuống còn khoảng 1 ml ở nhiệt độ 40°C sử dụng dòng nitơ nhẹ. Cần thay đổi dung môi nếu hiệu năng của GC khi sử dụng acetonitril không đạt yêu cầu hoặc nếu NPD được sử dụng (không có PTV-injector). Thực hiện bằng cách, hóa hơi dịch chiết đến gần khô ở nhiệt độ 40°C sử dụng dòng khí nitơ nhẹ và hòa tan trong 1 ml dung môi thích hợp (một vài giọt dodecan có thể giúp giảm mất những hợp chất dễ bay hơi). Dịch chiết mẫu trắng (cần thiết cho việc chuẩn bị các dung dịch đường chuẩn) cần được xử lý cùng một cách.

Phụ lục C
(Tham khảo)
Các chữ viết tắt

Các chữ viết tắt sử dụng trong tài liệu này được liệt kê và giải thích trong Bảng C.1

Bảng C.1 - Danh sách các chữ viết tắt

Chữ viết tắt	Nghĩa
APCI	Ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển
<i>c</i>	Nồng độ chất
C18	octadecyl-silyl-modified silica gel
<i>c</i> ISTD	Nồng độ nội chuẩn
<i>c</i> _{cal mix ISTD}	Pha loãng dung dịch nội chuẩn để tạo hỗn hợp đường chuẩn
d-SPE	Chiết phân tán pha rắn
ECD	Detector bắt giữ điện tử
EI	Ion hóa bằng bắn phá điện tử
ESI	Ion hóa phun điện tử
FPD	Detector quang hóa ngọn lửa
FWHM	Bề rộng tại nửa độ cao đỉnh (khối phổ)
<i>g</i>	9,81 ms ⁻²
GC	Sắc ký khí
GCB	Chất hấp phụ graphit cacbon black
GC-MS	Sắc ký khí khối phổ
GC-MS/MS	Sắc ký khí khối phổ hai lần
HPLC	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
ID	Đường kính trong
ISTD	Nội chuẩn
ITD	Detector bẫy ion
LC-HR-MS	Sắc ký lỏng khối phổ phân giải cao
LC-MS	Sắc ký lỏng khối phổ
LC-MS/MS	Sắc ký lỏng khối phổ hai lần
Log P	Logarit hệ số phân bố octanol/nước
MRL	Mức dư lượng tối đa cho phép
MRM	Chế độ kiểm soát đa/nhiều phản ứng

MS	Khối phổ
MS/MS	Khối phổ hai lần
MSD	Detector khối phổ
NaOH	Sodium hydroxit
NCI	Ion hóa hóa học âm
NPD	Detector nito photpho
ODS	Octadecylsilan
PCI	Ion hóa hóa học tạo ion dương
pKa	pK hằng số phân ly axit (Bảng 2, C0)
PSA	Chất hấp phụ amin bậc 1 và bậc 2
PTV	Chương trình nhiệt độ hóa hơi
QC	Kiểm soát chất lượng
Rt	Thời gian lưu
Rt(A)	Thời gian lưu của chất phân tích
Rt(ISTD)	Thời gian lưu của nội chuẩn
SIM	Chế độ phân tích chọn lọc ion
SPE	Chiết pha rắn
SRM	Chế độ phân tích chọn lọc phản ứng
TOF	Thời gian bay
UHPLC	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng
UPLC-MS/MS	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng khối phổ hai lần
w	Phần khối lượng
w _A	Phần khối lượng của hoạt chất được xác định
ρ	Nồng độ khối lượng
A	Nồng độ khối lượng của hoạt chất trong dịch chiết sau cùng
φ	Phần thể tích
1	Dung dịch dịch chiết thô sử dụng
2	Thể tích nước hoặc axetonitril/nước thêm vào

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] EN 15662:2018 – *Foods of plant origin – Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- and LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – Modular QuEChERS – method*. European Committee for Standardization (CEN), 2018.
- [2] Arbeitsgruppe „Pestizide“ – 5. Empfehlung: Kriterien zur Vorbereitung und Reduzierung von Proben pflanzlicher Lebensmittel für die Rückstandsanalyse von Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln. Lebensmittelchemie, 1995, 49, pp. 40-42.
- [3] CEN/TR 15641 – *Food analysis - Determination of pesticide residues by LC-MS/MS - Tandem mass spectrometric parameters*.
- [4] CEN/TR 16699 – *Foodstuffs - Determination of pesticide residues by GC-MS/MS - Tandem mass spectrometric parameters*.
- [5] CEN/TR 16468 – *Food analysis - Determination of pesticide residues by GC-MS - Retention times, mass spectrometric parameters and detector response information*.
- [6] DG-SANTE – *Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed*. Document SANTE/11312/2021 Rev.2, European Commission, Directorate-General for Health and Food Safety, 19 October 2023.
- [7] DATA POOL OF THE EU REFERENCE LABORATORIES FOR RESIDUES OF PESTICIDES – Online resources: <http://www.eurl-pesticides-datapool.eu>.
- [8] ANASTASSIADES M., LEHOTAY S. J., STAJNBAHER D., SCHENCK F. J. – *Fast and Easy Multiresidue Method Employing Acetonitrile Extraction/Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce*. J. AOAC Int., 2003, **86**(2), pp. 412-431.
- [9] CEN/TR 17063:2017 – *Foods of plant origin - Multimethod for the determination of pesticide residues using GC- or LC-based analysis following acetonitrile extraction/partitioning and cleanup by dispersive SPE - Validation data of the modular QuEChERS-method*.
- [10] **Thermo Fisher Scientific** – *Fast GC-MS/MS Pesticide Analysis*, Application Note AN52072. Available at: <http://www.thermofisher.com.au/Uploads/file/Scientific/Applications/Scientific-Instruments-Automation/Fast-GC-MSMS-Pesticide-Analysis-AN52072.pdf>
-