

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 11516:2016

**DẦU THỰC VẬT - XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
AFLATOXIN TỔNG SỐ VÀ CÁC AFLATOXIN B1, B2, G1, G2
- PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LÒNG CÓ LÀM SẠCH BẰNG
CỘT ÁI LỰC MIỄN NHIỄM**

Vegetable oils - Determination of aflatoxin b1, b2, g1, g2 and total aflatoxins - Liquid chromatographic method with immunoaffinity column cleanup

HÀ NỘI - 2016

Lời nói đầu

TCVN 11516:2016 được xây dựng trên cơ sở tham khảo AOAC 2013.05, *Aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂ in olive oil, peanut oil, and sesame oil* Immunoaffinity column cleanup and liquid chromatographic quantitation;

TCVN 11516:2016 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F2 Dầu mỡ động vật và thực vật biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Dầu thực vật -**Xác định hàm lượng aflatoxin tổng số và các aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ -****Phương pháp sắc ký lỏng có làm sạch bằng cột ái lực miễn nhiễm**

Vegetable oils – Determination of aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ and total aflatoxins –

Liquid chromatographic method with immunoaffinity column cleanup

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu và các thao tác nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đề cập đến tất cả các vấn đề về an toàn có liên quan trong việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thực hành liên quan đến sức khỏe và an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng aflatoxin tổng số (AF: tổng của AFB₁, AFB₂, AFG₁ và AFG₂) và các aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ trong dầu thực vật.

Phương pháp này đã được đánh giá liên phòng trên dầu ôliu, dầu lạc và dầu vừng với giới hạn xác định của AF là 2 µg/kg đến 20 µg/kg và giới hạn xác định của AFB₁ là 1 µg/kg đến 10 µg/kg trong nền mẫu.

2 Tài liệu viện dẫn

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

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

3 Nguyên tắc

Phần mẫu thử được chiết bằng hỗn hợp metanol và nước (55:45, phần thể tích). Sau khi lắc và ly tâm, mẫu chiết được lọc, pha loãng bằng nước và cho vào cột ái lực (IAC) chứa các kháng thể đặc hiệu đối với aflatoxin. Sau khi rửa bằng hỗn hợp metanol và nước (10:90, phần thể tích), aflatoxin được rửa giải khỏi cột bằng metanol và xác định bằng sắc ký lỏng có detector huỳnh quang (LC-FLD). Đối với dẫn xuất sau cột aflatoxin, sử dụng thiết bị dẫn xuất quang hóa hoặc cuvet Kobra.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích, trừ khi có quy định khác.

4.1 Nước, theo loại 1 của TCVN 4851 (ISO 3696).

4.2 Dung môi metanol và axetonitril, loại dùng cho sắc ký.

CẢNH BÁO – Metanol và axetonitril là các chất độc, cần phải tiến hành rót trong tủ hút.

4.3 Dung môi chiết, hỗn hợp metanol và nước (55:45, phần thể tích), dạng hỗn hợp, cân bằng đến nhiệt độ phòng.

4.4 Dung dịch rửa, hỗn hợp metanol và nước (10:90, phần thể tích), dạng hỗn hợp, cân bằng đến nhiệt độ phòng.

4.5 Aflatoxin, chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc của bốn aflatoxin ở 10 µg/ml trong axetonitril

CẢNH BÁO – Cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC) đã phân loại aflatoxin là chất gây ung thư cho người (nhóm 1A:1). Phải mặc quần áo bảo hộ, găng tay và kính an toàn vào mọi lúc và phải tiến hành tất cả các giai đoạn chuẩn bị mẫu và chuẩn bị các chuẩn trong tủ hút. Làm sạch các viên aflatoxin bằng dung dịch tẩy trắng đã pha loãng (độ pha loãng 1:10) và để yên trong 10 min. Sau khi lau hết dung dịch tẩy trắng, lau bằng axeton loãng 5 %. Tráng tất cả các dụng cụ thủy tinh bằng dung dịch tẩy trắng đã pha loãng trước khi rửa. Quá trình phân tích phải được tiến hành trong tủ hút. Thải bỏ các dung môi rửa giải phù hợp với qui định về môi trường.

4.5.1 Chuẩn bị từng dung dịch chuẩn gốc aflatoxin 10 µg/ml

Cân 10 mg mỗi aflatoxin cho vào các bình định mức 100 ml riêng rẽ. Thêm 50 ml axetonitril, trộn, thêm tiếp axetonitril đến vạch và trộn lại. Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch này cho vào các bình định mức 100 ml khác, thêm axetonitril đến vạch và trộn. Ghi lại phổ UV của từng dung dịch aflatoxin.

Xác định nồng độ của dung dịch aflatoxin, tính bằng µg/ml, bằng cách đo độ hấp thụ (A) ở bước sóng xác hấp thụ tối đa ở khoảng 360 nm và sử dụng Công thức:

$$AF = \frac{A \times MW \times 1000}{\varepsilon}$$

Trong đó:

MW là khối lượng phân tử;

ε là độ hấp thụ phân tử.

Nồng độ của dung dịch aflatoxin phải xấp xỉ 10 µg/ml.

4.5.2 Chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc aflatoxin thứ hai 400 ng/ml (hỗn hợp của AFB₁, AFB₂, AFG₁, và AFG₂ ở nồng độ tương ứng 200 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml và 50 ng/ml)

Cho một lượng thích hợp từng chuẩn gốc aflatoxin vào cùng một bình định mức và pha loãng bằng axetonitrol đến vạch. Sử dụng dung dịch chuẩn gốc thứ hai 400 ng/ml làm dung dịch thêm chuẩn để tính độ thu hồi. Bảo quản dung dịch chuẩn gốc ở nhiệt độ - 18 °C. Cân bằng đến nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

4.5.3 Chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn làm việc aflatoxin

Hàng ngày chuẩn bị sáu dung dịch hiệu chuẩn vào bình định mức 5 ml riêng rẽ theo Bảng 1. Pha loãng bằng hỗn hợp metanol và nước (1:1, phần thể tích). Bảo quản trong tủ lạnh và cân bằng đến nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn làm việc hàng ngày.

Bảng 1 – Chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn làm việc aflatoxin

Dung dịch chuẩn làm việc	Dung dịch chuẩn gốc aflatoxin thứ hai 400 ng/ml µl	Nồng độ aflatoxin cuối cùng của dung dịch chuẩn làm việc, ng/ml				
		AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AF
1	0	0	0	0	0	0
2	10	0,4	0,1	0,2	0,1	0,8
3	25	1,0	0,25	0,5	0,25	2,0
4	50	2,0	0,50	1,0	0,5	4,0
5	100	4,0	1,0	2,0	1,0	8,0
6	250	10,0	2,5	5,0	2,5	20,0

4.6 Pha động, đẳng dòng, tốc độ dòng 0,8 ml/min.

4.6.1 Đối với dẫn xuất sau cột aflatoxin có cuvet PHRED hoặc dụng cụ UVE, sử dụng hỗn hợp

metanol-axetonitril-nước (25:17:60, phần thể tích).

4.6.2 Đối với dẫn xuất sau cột aflatoxin có cuvet Kobra, sử dụng 1 lít hỗn hợp metanol-axetonitril-nước (25:17:60, phần thể tích), 350 µl dung dịch axit nitric 4 M (nồng độ của axit nitric đặc là 15,9 M) và 120 mg kali bromua, trộn kỹ.

4.7 Natri clorua.

4.8 Dung môi muối đệm phosphat (PBS)

5 Thiết bị, dụng cụ

CẢNH BÁO – Tráng tất cả các dụng cụ thủy tinh bằng dung dịch tẩy trắng đã pha loãng trước khi rửa.

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

5.1 Máy lắc, có khả năng lắc 400 r/min¹⁾.

5.2 Ống ly tâm, làm bằng polypropylen, dung tích 50 ml, có nắp vặn kín.

5.3 Máy ly tâm²⁾.

5.4 Giấy lọc, gấp nếp, hạng 597 ½, 185 mm hoặc loại tương đương.

5.5 Giấy lọc sợi bông thủy tinh, Whatman 934-AH, GF/B tròn, 90 mm hoặc loại tương đương.

5.6 Cột ái lực miễn nhiễm (IAC)³⁾, cột IAC chứa kháng thể đơn dòng phản ứng chéo với AFB₁, AFB₂, AFG₁, và AFG₂. Cột phải có khả năng liên kết tối thiểu không nhỏ hơn 100 ng aflatoxin tổng số và có độ thu hồi không nhỏ hơn 80 % đối với AFB₁, AFB₂, AFG₁, và AFG₂, khi một dung dịch chuẩn trong 10 ml hỗn hợp metanol và dung môi PBS (4.8) (tỷ lệ 10:90, phần thể tích) thì có chứa 5 ng aflatoxin riêng rẽ.

Cột có hạn sử dụng 18 tháng khi được bảo quản ở 4 °C hoặc 12 tháng khi được bảo quản ở nhiệt độ phòng.

¹⁾ VWR DS 500 E (VWR International, Bridgeport, NJ, Hoa Kỳ) là sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

²⁾ Allegra X-22R là sản phẩm của Beckman Coulter, Inc., Brea, CA, Hoa Kỳ. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

³⁾ Cột AflaTest WB (G1024; VICAM, Watertown, MA, Hoa Kỳ) là sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

5.7 Cột phân phối, ví dụ: cột VICAM G1104; bơm tĩnh 12-vị trí, hoặc loại tương đương.

5.8 Hệ thống sắc ký lỏng, có điều kiện vận hành như sau:

- tốc độ dòng: 0,8 ml/min;
- detector: cài đặt ở bước sóng kích thích là 362 nm và bước sóng phát xạ là 440 nm;
- cột: cỡ hạt nhỏ 3 μ m, dài 150 mm, đường kính trong 4,6 mm⁴⁾.

5.9 Hệ thống dẫn xuất sau cột đối với aflatoxin

5.9.1 Thiết bị tạo dẫn xuất sau cột, dẫn xuất sau cột quang hóa của aflatoxin trong vòng phản ứng đặc biệt bằng tia UV, thể tích phản ứng chuẩn là 1,0 ml.

5.9.2 Cuvet PHRED-(cuvet dẫn xuất quang hóa-sau cột).

CẢNH BÁO – Tránh sự phơi nhiễm ánh sáng của tia UV.

5.9.3 Cuvet Kobra, cuvet điện hóa, cuvet dẫn xuất brom hóa sau cột.

CẢNH BÁO – Cài đặt ở 100 μ A. Không được bật cuvet cho đến khi vận hành bơm LC để tránh màng cuvet bị quá nhiệt.

5.10 Ống ly tâm, dung tích 50 ml.

5.11 Máy trộn Vortex.

5.12 Ống đong chia độ, dung tích 25 ml.

5.13 Bình định mức, dung tích 2 ml.

6 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 (ISO 5555)^[1].

7 Chuẩn bị mẫu thử

Cân 5,0 g phần mẫu thử cho vào ống ly tâm 50 ml (5.10). Thêm 1,0 g NaCl (4.7) và 25 ml dung môi

⁴⁾ YMC AQ12S03-1546WT, YMC ODS-AQ S-3 là sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

chiết (4.3). Đồng hóa hỗn hợp trong máy trộn Vortex (5.11) cho đến khi đồng nhất. Lắc trong máy lắc (5.1) ở tốc độ 400 r/min trong 10 min. Ly tâm ở 7000 r/min ($g = 5323 \text{ mm/s}^2$) trong 10 min. Hút và loại bỏ lớp dầu phía trên. Cho lớp metanol lỏng phía dưới qua giấy lọc gấp nếp (5.4). Dùng ống chia độ 25 ml (5.12) lấy 15 ml dịch lọc và đưa vào ống ly tâm 50 ml (5.10). Thêm 30 ml nước (4.1), trộn và lọc qua giấy lọc sợi bông thủy tinh (5.5). Thu lấy 30 ml dịch lọc (tương đương với 2 g mẫu thử) cho vào ống ly tâm 50 ml (5.2) và tiến hành chạy ngay sắc ký IAC.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng lọ đã silan hóa để bảo quản các dung dịch chuẩn gốc aflatoxin. Tất cả các dụng cụ thủy tinh khác sử dụng không được silan hóa.

8 Cách tiến hành

8.1 Làm sạch bằng cột miễn nhiễm

Sau khi lấy ra từ nhiệt độ bảo quản 4 °C, cột miễn nhiễm được cân bằng đến nhiệt độ phòng ít nhất 15 min trước khi sử dụng. Bỏ nắp đáy cột và nối với bể thu nhận của cột phân phối (5.7). Tháo nắp dưới cột và để chất lỏng trong cột chảy qua cho đến khi chất lỏng đạt mức 2 mm trên bề mặt cột. Thêm 30 ml dịch lọc vào bầu thu nhận. Để dịch lọc tự chảy qua cột miễn nhiễm cho đến khi chất lỏng đạt mức 2 mm trên bề mặt cột. Thêm 10 ml dung dịch rửa vào bầu thu nhận. Để cột chảy đến khô và sau đó dùng xyranh thổi 10 ml không khí qua cột. Đặt bình định mức 2 ml (5.13) dưới cột. Rửa giải tiếp bằng 0,6 ml metanol (4.2) và thu lấy aflatoxin vào bình định mức 2 ml (5.13), để chảy nhỏ giọt, chảy đến khô. Rửa giải bằng 0,6 ml metanol và thu lấy dịch rửa giải vào cùng bình định mức. Để cột chảy đến khô và thổi 10 ml không khí qua cột. Pha loãng dịch rửa giải bằng nước đến vạch và tiến hành phân tích sắc ký lỏng.

8.2 Phân tích sắc ký lỏng

Bơm 50 µl thuốc thử trắng (hiệu chỉnh 1), chuẩn làm việc aflatoxin (4.5.3) hoặc mẫu thử lên cột sắc ký lỏng. Nhận diện pic aflatoxin trong mẫu thử bằng cách so sánh thời gian lưu của mẫu với thời gian lưu của chuẩn. Rửa giải aflatoxin theo trình tự G_2 , G_1 , B_2 , và B_1 . Sau khi cho qua thiết bị dẫn xuất sau cột (5.9.1), cuvet PHRED (5.9.2) hoặc cuvet Kobra (5.9.3), aflatoxin G_1 và aflatoxin B_1 được dẫn xuất thành G_2a (dẫn xuất của G_1) và B_2a (dẫn xuất của B_1). Thời gian lưu của aflatoxin G_2 , G_2a , B_2 , và B_2a trong khoảng từ 11 min đến 21 min, sử dụng cuvet PHRED (5.9.2) (Xem Hình A.1).

CHÚ THÍCH: Nếu sử dụng cuvet Kobra thì thời gian lưu sẽ ngắn hơn.

8.3 Dựng đường chuẩn

Các pic phải được nhận biết rõ trên đường nền. Dựng đường chuẩn của từng aflatoxin.

Dựng đồ thị diện tích pic (độ đáp ứng, trục Y) của từng aflatoxin chuẩn so với nồng độ (ng/ml, trục X) và xác định độ dốc (S) và điểm giao với trục Y (hệ số chặn a).

8.4 Định lượng aflatoxin

Xác định nồng độ của từng aflatoxin trong dung dịch thử từ đường chuẩn, sử dụng dung dịch hiệu chuẩn làm việc chứa bốn aflatoxin (4.5.3). Các dung dịch này nằm trong dải từ 0,4 ng/ml đến 10,0 ng/ml đối với aflatoxin B₁, 0,1 ng/ml đến 2,5 ng/ml đối với aflatoxin B₂, 0,2 ng/ml đến 5,0 ng/ml đối với aflatoxin G₁ và 0,1 ng/ml đến 2,5 ng/ml đối với aflatoxin G₂.

Dùng đường chuẩn trước khi phân tích theo Bảng 1 và kiểm tra độ tuyến tính. Nếu diện tích phần thử phản ứng nằm ngoài (cao hơn) dải hiệu chuẩn thì mẫu chiết đã tinh sạch phải được pha loãng bằng hỗn hợp metanol và nước (4.4) (50:50, phần thể tích) và bơm lại lên cột sắc ký lỏng.

Tiến hành định lượng các aflatoxin bằng cách đo các diện tích pic ở thời gian lưu của từng aflatoxin và so sánh chúng với đường chuẩn tương ứng.

9 Tính kết quả

9.1 Tính hàm lượng các aflatoxin B₁, B₂, G₁, và G₂

Tính hàm lượng của từng aflatoxin trong mẫu thử, X_i , bằng microgam trên kilogam (µg/kg), theo Công thức:

$$X_i = \frac{R-a}{S} \times \frac{V}{W} \times F$$

Trong đó:

R là diện tích pic của dung dịch thử;

a là điểm giao của đồ thị với trục Y;

S là độ dốc của đồ thị;

V là thể tích cuối cùng của dung dịch thử được bơm, tính bằng mililit (ml);

F là hệ số pha loãng ($F = 1$ khi $V = 2$ ml);

W là khối lượng mẫu thử cho qua cột miễn nhiễm ($W = 2$ g).

9.2 Tính hàm lượng aflatoxin tổng số

Hàm lượng aflatoxin tổng số là tổng của các aflatoxin B₁, B₂, G₁ và G₂.

10 Báo cáo thử nghiệm

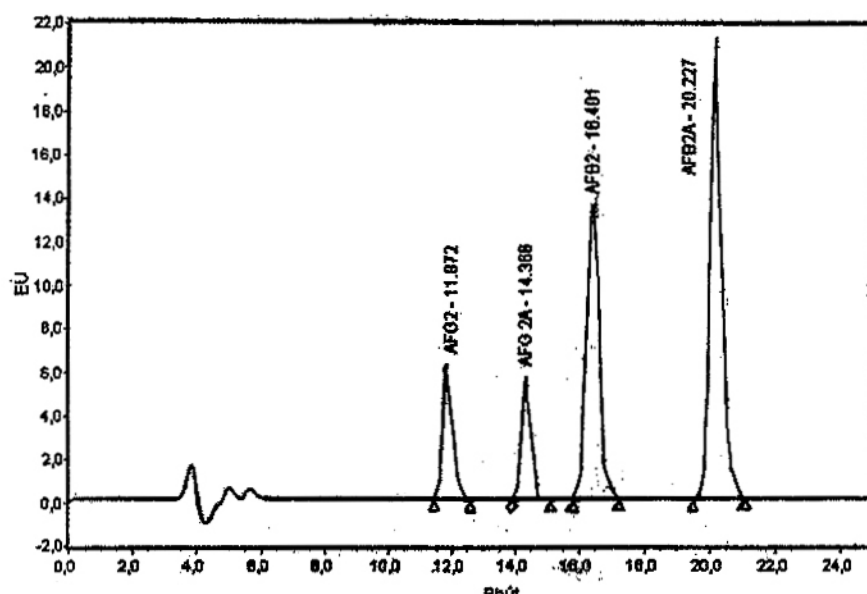
Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm;
- e) kết quả thử thu được;
- f) nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Sắc ký đồ



Hình A.1 – Sắc đồ điển hình của dung dịch chuẩn aflatoxin
(aflatoxin = 4,0 ng/ml, thời gian lưu từ 11 min đến 21 min, dẫn xuất sau cột bằng cuvet PHRED)

Phụ lục B

(Tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm được cung cấp từ các phòng thử nghiệm chấp nhận phương pháp. Phép thử tiến hành trên mẫu dầu ôliu, dầu lạc và dầu vừng.

Bảng B.1 – Kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm
đối với aflatoxin trong mẫu dầu ôliu

Aflatoxin ^a (AF)	Mức bổ sung, µg/kg	Giá trị trung bình, µg/kg	Độ thu hồi trung bình, %	Độ lệch chuẩn lặp lại, s _r , µg/kg	Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , µg/kg	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, RSD _r , %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD _R , %	Chỉ số HorRat	Độ lệch chuẩn dự đoán, SD, 0,22c	Chỉ số HorRat ^b	Số phòng thử nghiệm	Số phòng thử nghiệm ngoại lệ
B ₁	1	0,86	86	0,07	0,10	8,09	11,18	0,24	0,19	0,51	14	1
B ₂	0,25	0,23	93	0,01	0,02	5,40	7,52	0,13	0,05	0,34	13	2
G ₁	0,5	0,45	90	0,05	0,06	11,75	13,18	0,26	0,10	0,60	14	1
G ₂	0,25	0,21	82	0,01	0,02	5,08	7,57	0,13	0,05	0,34	13	2
AF	2	1,73	87	0,12	0,16	6,89	9,47	0,23	0,38	0,43	14	1
B ₁	2	1,77	89	0,07	0,27	3,98	15,35	0,37	0,39	0,70	15	0
B ₂	0,5	0,46	92	0,02	0,06	4,18	13,62	0,27	0,10	0,62	14	1
G ₁	1	0,88	88	0,07	0,16	8,12	18,12	0,39	0,19	0,82	15	0
G ₂	0,5	0,40	80	0,03	0,07	7,43	17,56	0,34	0,09	0,80	14	1
AF	4	3,56	89	0,12	0,52	3,42	14,52	0,39	0,78	0,66	13	2
B ₁	10	8,61	86	0,57	1,00	6,67	11,62	0,35	1,89	0,53	14	1
B ₂	2,5	2,23	89	0,14	0,25	6,20	11,15	0,28	0,49	0,51	14	1
G ₁	5	4,25	85	0,28	0,63	6,60	14,72	0,40	0,93	0,67	14	1
G ₂	2,5	1,90	76	0,13	0,22	6,68	11,45	0,28	0,42	0,52	13	2
AF	20	16,89	84	0,96	1,79	5,70	10,59	0,36	3,72	0,48	14	1

^a AF là tổng của aflatoxin B₁, B₂, G₁ và G₂.
^b Phép tính sử dụng độ lệch chuẩn dự đoán là 0,22 c.

CHÚ THÍCH: Mẫu trắng được phát hiện chứa hàm lượng aflatoxin < 0,1 µg/kg.

**Bảng B.2 – Kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm
đối với aflatoxin trong mẫu dầu lạc**

Aflatoxin ^a (AF)	Mức bổ sung, µg/kg	Giá trị trung bình, µg/kg	Độ thu hồi trung bình, %	Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r µg/kg	Độ lệch chuẩn tái lập, s_R µg/kg	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, RSD_r %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD_R %	Chỉ số HorRat	Độ lệch chuẩn dự đoán, SD, 0,22c	Chỉ số HorRat ^b	Số phòng thử nghiệm	Số phòng thử nghiệm ngoại lệ
B ₁	1	0,86	86	0,07	0,08	8,39	8,72	0,19	0,19	0,40	13	2
B ₂	0,25	0,24	94	0,02	0,02	7,94	10,51	0,19	0,05	0,48	15	0
G ₁	0,5	0,47	94	0,05	0,05	11,4	11,65	0,23	0,10	0,53	15	0
G ₂	0,25	0,21	85	0,01	0,03	6,08	12,22	0,21	0,05	0,56	14	1
AF	2	1,80	90	0,17	0,19	9,27	10,36	0,25	0,40	0,47	15	0
B ₁	2	1,77	89	0,19	0,22	10,48	12,34	0,30	0,39	0,56	15	0
B ₂	0,5	0,47	94	0,04	0,05	8,30	10,50	0,21	0,10	0,48	15	0
G ₁	1	0,93	93	0,09	0,12	9,72	13,22	0,29	0,20	0,60	15	0
G ₂	0,5	0,42	84	0,03	0,05	7,64	10,97	0,21	0,09	0,50	14	1
AF	4	3,56	89	0,32	0,35	8,91	9,94	0,27	0,78	0,45	15	0
B ₁	10	8,70	87	0,30	0,65	3,50	7,45	0,23	1,91	0,34	15	0
B ₂	2,5	2,28	91	0,07	0,17	3,24	7,36	0,18	0,50	0,33	15	0
G ₁	5	4,40	88	0,29	0,48	6,51	10,80	0,30	0,97	0,49	15	1
G ₂	2,5	2,00	80	0,10	0,19	4,82	9,61	0,27	0,44	0,44	14	1
AF	20	17,29	87	0,65	1,09	3,76	6,30	0,21	3,80	0,29	15	0
B ₁	NC	10,70	NA	1,17	1,57	10,93	14,66	0,46	2,35	0,67	15	0
B ₂	NC	1,73	NA	0,16	0,25	9,51	14,59	0,35	0,38	0,66	15	0
G ₁	NC	0,62	NA	0,07	0,09	10,73	14,35	0,30	0,14	0,65	14	1
G ₂	NC	0,11	NA	0,01	0,02	14,17	23,68	0,38	0,02	1,08	14	1
AF	NC	13,17	NA	1,34	1,89	10,15	14,34	0,47	2,90	0,65	15	0

^a AF là tổng của aflatoxin B₁, B₂, G₁ và G₂.

^b Phép tính sử dụng độ lệch chuẩn dự đoán là 0,22 c.

CHÚ THÍCH: Mẫu trắng được phát hiện chứa hàm lượng aflatoxin < 0,1 µg/kg.

NA: Không áp dụng.

NC: Mẫu bị nhiễm tự nhiên.

**Bảng B.3 – Kết quả nghiên cứu liên phòng thử nghiệm
đối với aflatoxin trong mẫu dầu vừng**

Aflatoxin ^a (AF)	Mức bổ sung, µg/kg	Giá trị trung bình, µg/kg	Độ thu hồi trung bình, %	Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r µg/kg	Độ lệch chuẩn tái lập, s_R µg/kg	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, RSD_r %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD_R %	Chỉ số HorRat	Độ lệch chuẩn dự đoán, SD, 0,22c	Chỉ số HorRat ^b	Số phòng thử nghiệm	Số phòng thử nghiệm ngoại lệ
B ₁	1	0,91	91	0,04	0,07	4	8,05	0,18	0,20	0,37	13	2
B ₂	0,25	0,24	94	0,01	0,02	3,91	7,13	0,13	0,05	0,32	13	2
G ₁	0,5	0,49	97	0,07	0,08	14,16	15,92	0,32	0,11	0,72	15	0
G ₂	0,25	0,2	78	0,01	0,04	7,63	18,12	0,31	0,04	0,82	14	1
AF	2	1,82	91	0,06	0,11	3,23	6,08	0,15	0,40	0,28	13	2
B ₁	2	1,85	93	0,13	0,2	7,03	10,82	0,26	0,41	0,49	14	1
B ₂	0,5	0,48	95	0,03	0,04	6,16	8,32	0,20	0,10	0,38	14	1
G ₁	1	0,96	97	0,14	0,15	14,89	15,09	0,33	0,21	0,69	15	0
G ₂	0,5	0,39	78	0,03	0,07	6,77	17,03	0,33	0,09	0,77	15	0
AF	4	3,69	92	0,25	0,3	6,64	8,19	0,22	0,81	0,37	14	1
^a AF là tổng của aflatoxin B ₁ , B ₂ , G ₁ và G ₂ . ^b Phép tính sử dụng độ lệch chuẩn dự đoán là 0,22 c. CHÚ THÍCH: Mẫu trắng được phát hiện chứa hàm lượng aflatoxin < 0,1 µg/kg.												

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 2625 (ISO 5555) *Dầu mỡ động vật và thực vật— Lấy mẫu.*
-