

TCVN 14437:2025

PD CEN/TS 16621:2014

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH BENZO[a]PYREN,
BENZ[a]ANTHRACEN, CHRYSEN VÀ
BENZO[b]FLUORANTHEN BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU
NĂNG CAO SỬ DỤNG DETECTOR HUỖNH QUANG
(HPLC-FD)**

Food analysis – Determination of benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, chrysene and benzo[b]fluoranthene in foodstuffs by high performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FD)

HÀ NỘI – 2025

Lời nói đầu

TCVN 14437:2025 hoàn toàn tương đương với PD CEN/TS 16621:2014;

TCVN 14437:2025 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam đề nghị, Ủy ban Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng Quốc gia thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm – Xác định benzo[a]pyren, benz[a]anthracen, chrysen và benzo[b]fluoranthene bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao sử dụng detector huỳnh quang (HPLC-FD)

Food analysis – Determination of benzo[a]pyrene, benz[a]anthracene, chrysene and benzo[b]fluoranthene in foodstuffs by high performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FD)

CẢNH BÁO – Việc sử dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thao tác và thiết bị, dụng cụ nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không nhằm mục đích giải quyết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng có trách nhiệm thiết lập các biện pháp an toàn và sức khỏe phù hợp trước khi sử dụng.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định benzo[a]pyren (BaP) cùng với benz[a]anthracen (BaA), benzo[b]fluoranthene (BbF) và chrysen (CHR) trong một số nền mẫu thực phẩm. Phương pháp này dựa trên việc làm sạch sắc ký rây phân tử (SEC), sau đó định lượng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC), sử dụng detector huỳnh quang có thể lập trình được. Phương pháp này đã được xác nhận giá trị sử dụng trong phòng thử nghiệm, thông qua phép phân tích các mẫu thêm chuẩn: mẫu dầu ôliu, vẹm sống, cá xông khói, các sản phẩm thịt xông khói, thực phẩm chế biến từ ngũ cốc dành cho trẻ nhỏ, thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh, sôcôla và thực phẩm bổ sung (isoflavon) trong khoảng từ 0,25 µg/kg đến 1,00 µg/kg và từ 4,95 µg/kg đến 23,53 µg/kg, tùy thuộc vào các hydrocarbon thơm đa vòng (PAH) hoặc nền mẫu. Phương pháp này phù hợp với các đặc tính hiệu năng được quy định cho BaP, BaA, BbF và CHR [3].

Phương pháp này đã được chứng minh là có thể áp dụng cho nhiều loại nền mẫu khác như các sản phẩm thịt, cá tươi, ớt paprika, cà phê rang, bánh mì, thảo mộc, ngũ cốc ăn sáng, bia, dầu hướng dương, ôliu và cà chua sấy khô, với giới hạn định lượng dưới 0,5 µg/kg.

Ngoài ra, phương pháp này đã được thử nghiệm nội bộ phòng thử nghiệm và cho thấy có thể được áp dụng để định lượng 12 PAH khác [(benzo[c]fluoren (BcL), benzo[j]fluoranthene (BjF),

benzo[k]fluoranthene (BkF), cyclopenta[cd]pyrene (CPP), dibenz[a,h]anthracene (DhA), dibenzo[a,e]pyrene (DeP), benzo[ghi]perylene (BgP), dibenzo[a,h]pyrene (DhP), dibenzo[a,i]pyrene (DiP), dibenzo[a,j]pyrene (DIP), indeno[1,2,3-cd]pyrene (IcP), 5-methylchrysene (5MC)] trong tất cả các nền mẫu được liệt kê ở trên và ở các khoảng tương tự, ngoại trừ CPP, với detector UV phải được sử dụng với giới hạn định lượng trên 8 µg/kg.

Để xác định các PAH trong dầu và mỡ ăn, sử dụng hai tiêu chuẩn khác là TCVN 10482 (ISO 22959) và TCVN 9531 (ISO 15753) (xem Tài liệu tham khảo [1] và [2]).

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 4851:1989 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

3 Nguyên tắc

Các PAH được chiết ra khỏi các nền mẫu rắn bằng dichloromethane. Trong trường hợp dầu ăn, các mẫu đơn thuần được phân tán trong dichloromethane. Các phân chiết thô trong dichloromethane được tinh sạch bằng SEC. Các chất chiết cuối cùng được phân tích bằng HPLC trong các điều kiện gradient, sử dụng detector huỳnh quang được lập trình.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước phù hợp với loại 1 của TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987), trừ khi có quy định khác. Dung môi phải có chất lượng để phân tích HPLC. Để lưu trữ và kiểm tra ngày hết hạn sử dụng đối với các hợp chất và các dung dịch thương mại, phải tuân theo chỉ dẫn hoặc chứng nhận của nhà cung cấp. Dung dịch chuẩn đã làm lạnh phải đưa về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

CẢNH BÁO 1 – Một số PAH được coi là chất gây ung thư. Những người sử dụng tiêu chuẩn này cần nắm rõ các thực hành phòng thử nghiệm thông thường. Người sử dụng tiêu chuẩn này có trách nhiệm áp dụng các thực hành phù hợp với các biện pháp an toàn và sức khỏe nghề nghiệp.

CẢNH BÁO 2 – Loại bỏ chất thải hóa học theo các quy trình và quy định về môi trường hiện hành.

CẢNH BÁO 3 – PAH bị biến đổi bởi ánh sáng UV. Bảo vệ các dung dịch PAH tránh ánh sáng (giữ trong bóng tối, sử dụng giấy nhôm hoặc thủy tinh màu nâu).

CẢNH BÁO 4 – Người phân tích phải đảm bảo không để các mẫu bị ô nhiễm trong quá trình chuẩn bị mẫu. Vật chứa phải được tráng bằng acetone hoặc hexan có độ tinh khiết cao trước khi sử dụng để giảm thiểu nguy cơ ô nhiễm. Khi có thể, thiết bị và dụng cụ tiếp xúc với mẫu phải được làm bằng vật liệu trơ như nhôm, thủy tinh hoặc thép không gỉ. Cần thận trọng khi sử dụng vật liệu chất dẻo như polypropylen hoặc PTFE do các chất phân tích có thể được hấp thụ vào các vật liệu này.

4.1 Khí nén heli đã tinh sạch (độ tinh khiết tương đương 99,995 % hoặc cao hơn). Để khử khí dung môi, nếu cần.

4.2 Khí nén nitơ đã tinh sạch (độ tinh khiết tương đương 99,995 % hoặc cao hơn).

4.3 Acetone.

4.4 *n*-Hexan.

4.5 Dichloromethane.

4.6 Acetonitril.

4.7 Methoxychlor.

4.8 Perylen.

4.9 Lưu huỳnh.

4.10 Dầu ngô, loại thương mại.

4.11 Dung môi pha động A của HPLC: Nước.

Dung môi pha động A phải được khử khí.

4.12 Dung môi B pha động của HPLC: Acetonitril (4.6).

Dung môi pha động B phải được khử khí.

4.13 Cyclohexan.

4.14 Ethyl acetat.

4.15 Hỗn hợp cyclohexan và ethyl acetat.

Trộn một phần thể tích cyclohexan (4.13) với một phần thể tích ethyl acetat (4.14).

4.16 Natri sulfat khan.

4.17 Hydrocarbon thơm đa vòng.

4.17.1 Benzo[a]pyren (BaP).

4.17.2 Chrysen (CHR).

4.17.3 Benzo[b]fluoranthen (BbF).

4.17.4 Benz[a]anthracen (BaA).

4.17.5 Benzo[k] fluoranthen (BkF).

4.17.6 Dibenzo[a,h]anthracen (DhA).

4.17.7 Benzo[g,h,i]perylene (BgP).

4.17.8 Indeno[1,2,3-cd]pyren (IcP).

4.17.9 Benzo[c]fluorene (BcL).

4.17.10 Cyclopenta[c,d]pyren (CPP).

4.17.11 5-Methylchrysen (5MC).

4.17.12 Benzo[j]fluoranthen (BjF).

4.17.13 Dibenzo[a,i]pyren (DiP).

4.17.14 Dibenzo[a,e]pyren (DeP).

4.17.15 Dibenzo[a,l]pyren (DlP).

4.17.16 Dibenzo[a,h]pyren (DahP).

4.17.17 Dung dịch chuẩn 15+1 PAH có chứa nồng độ mỗi chất 10 µg/mL, trong dung môi hữu cơ thích hợp, tốt nhất là acetonitril.

4.18 Dung dịch chuẩn PAH4

Chuẩn bị dung dịch chuẩn PAH4 10 µg/mL trong acetonitril bằng cách cân cẩn thận một lượng thích hợp 4 PAH (BaP, BaA, BbF và CHR) riêng rẽ trong acetonitril. Bảo quản dung dịch này trong điều kiện lạnh. Dung dịch được bảo quản theo cách này sẽ ổn định trong ít nhất 12 tháng. Nếu chứng minh được độ ổn định dài hơn thì có thể tiếp tục sử dụng dung dịch.

4.19 Dung dịch gốc PAH4

Chuẩn bị dung dịch gốc 500 ng/mL trong acetonitril bằng cách pha loãng chính xác 500 μ L dung dịch chuẩn PAH4 10 μ g/mL (4.18) đến 10 mL bằng acetonitril (4.6) cho vào bình định mức 10 mL đã hiệu chuẩn. Bảo quản dung dịch này trong điều kiện lạnh. Dung dịch được bảo quản theo cách này sẽ ổn định ít nhất 12 tháng. Nếu chứng minh được độ ổn định dài hơn thì có thể tiếp tục sử dụng dung dịch.

4.20 Dung dịch làm việc PAH4

Chuẩn bị dung dịch làm việc 50 ng/mL trong acetonitril, bằng cách pha loãng 1 mL dung dịch gốc PAH4 500 ng/mL trong acetonitril (4.19) đến 10 mL bằng acetonitril (4.6), cho vào bình định mức 10 mL đã hiệu chuẩn. Bảo quản dung dịch này trong điều kiện lạnh. Dung dịch được bảo quản theo cách này sẽ ổn định ít nhất 6 tháng. Nếu chứng minh được độ ổn định dài hơn thì có thể tiếp tục sử dụng dung dịch.

4.21 Dung dịch gốc 15+1 PAH

Chuẩn bị dung dịch gốc 500 ng/mL trong acetonitril bằng cách dùng pipet lấy chính xác 500 μ L dung dịch chuẩn 15+1 PAH 10 μ g/mL (4.17.17), cho vào bình định mức 10 mL đã hiệu chuẩn. Làm khô bằng cách bay hơi dưới nitơ và hòa tan lại trong 10 mL acetonitril (4.6). Bảo quản dung dịch này trong điều kiện lạnh. Dung dịch được bảo quản theo cách này sẽ ổn định trong ít nhất 12 tháng. Nếu chứng minh được độ ổn định dài hơn thì có thể tiếp tục sử dụng dung dịch.

Trong trường hợp dung dịch chuẩn 15+1 PAH có chứa mỗi chất 10 μ g/mL trong acetonitril có bán sẵn thì dung dịch gốc 15+1 PAH có thể được chuẩn bị trực tiếp bằng cách pha loãng 500 μ L dung dịch đó đến 10 mL bằng acetonitril.

4.22 Dung dịch làm việc 15+1 PAH

Chuẩn bị dung dịch làm việc 50 ng/mL trong acetonitril bằng cách pha loãng 1 mL dung dịch gốc 15+1 PAH 500 ng/mL trong acetonitril (4.21) đến 10 mL bằng acetonitril, cho vào bình định mức 10 mL đã hiệu chuẩn. Bảo quản dung dịch này trong điều kiện lạnh. Dung dịch được bảo quản theo cách này sẽ ổn định ít nhất 6 tháng. Nếu chứng minh được độ ổn định dài hơn thì có thể tiếp tục sử dụng dung dịch.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Máy trộn tốc độ cao, dùng cho các mẫu dạng rắn và **máy trộn Vortex** dùng cho các mẫu dạng lỏng.

5.2 Giấy lọc, thích hợp cho phân tích định tính, được gấp nếp.

5.3 Ống thủy tinh đáy tròn, dung tích 250 mL, thích hợp cho máy trộn tốc độ cao.

5.4 Thiết bị làm bay hơi, có nồi cách thủy và có thể thổi khí nitơ.

5.5 Cân phân tích, chính xác đến 0,000 1 g.

5.6 Cân phòng thử nghiệm, chính xác đến 0,1 g.

5.7 Xyranh thủy tinh, dung tích 5 mL.

5.8 Microxyranh, dung tích 250 μ L, 500 μ L và 1 000 μ L.

5.9 Bình định mức đã hiệu chuẩn, dung tích 5 mL và 10 mL.

5.10 Pipet xả hết, 200 μ L, với các đầu tip thích hợp.

5.11 Lọ thủy tinh, dung tích khoảng 1,8 mL và nắp vặn.

5.12 Pipet chia vạch, dung tích 5 mL.

5.13 Hệ thống sắc ký rây phân tử (SEC), bao gồm:

5.13.1 Bơm HPLC (đẳng dòng), có khả năng bơm 5 mL/min không xung.

5.13.2 Hệ thống bơm mẫu, phù hợp với thể tích bơm 1,0 mL và 0,2 mL.

5.13.3 Hai cột làm sạch SEC, 19 mm x 150 mm và 19 mm x 300 mm, được nối với nhau, được nhồi hạt copolyme styren divinylbenzen hiệu năng cao, đủ xốp, liên kết chéo cao, cỡ lỗ 10 nm với cỡ hạt danh nghĩa 15 μ m.

5.13.4 Detector UV, có khả năng đo ở bước sóng $\lambda = 254$ nm.

5.13.5 Bộ thu nhận phân đoạn

5.13.6 Bộ ghi, bộ tích phân hoặc hệ thống xử lý dữ liệu bằng máy tính.

5.13.7 Hiệu chuẩn

Nối các cột vào hệ thống và hiệu chuẩn các cột làm sạch SEC theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Dung dịch hiệu chuẩn yêu cầu các hợp chất sau: dầu ngô, methoxychlor, perylen và lưu huỳnh. Việc hiệu chuẩn hệ thống sẽ xác định thời gian đã sử dụng từ việc bơm mẫu để rửa giải của các PAH bằng cách sử dụng perylen làm chất chỉ thị. Phân đoạn hoặc các phân đoạn chứa PAH có thể được lựa chọn bằng cách lập trình bộ thu nhận phân đoạn.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng các cột SEC khác với điều kiện là hệ thống SEC sau khi hiệu chuẩn có thể bao gồm các PAH trong phân đoạn hoặc các phân đoạn đã chọn, với tỷ lệ thu hồi có thể chấp nhận được và không gây nhiễu.

5.14 Thiết bị HPLC, gồm:

5.14.1 Hệ thống bơm mẫu, phù hợp với thể tích bơm 100 μL .

5.14.2 Bơm pha động (gradient), có khả năng bơm 1 mL/min không xung.

5.14.3 Detector huỳnh quang được lập trình.

5.14.4 Hệ thống xử lý dữ liệu bằng máy tính.

5.14.5 Hệ thống HPLC pha đảo để hiệu phân tích dùng cho PAH, cột tách: C18, octadecyl silan đã khử hoạt tính (ODS) (kích thước cột: 4,6 mm x 250 mm, cỡ hạt 5 μm) và cột bảo vệ pha đảo tương ứng phù hợp.

5.14.6 Bộ khử khí (tùy chọn).

5.14.7 Lò cột, có thể hoạt động ở $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.14.8 Detector UV, có khả năng cung cấp $\lambda = 223\text{ nm}$.

5.15 Bộ lọc PTFE, 0,20 μm hoặc 0,45 μm .

5.16 Ống thủy tinh, dung tích 10 mL, thích hợp cho thiết bị làm bay hơi (5.4) và bộ thu nhận phân đoạn (5.13.5).

5.17 Ống thủy tinh, dung tích 10 mL, có nắp đậy.

5.18 Máy nghiền.

6 Cách tiến hành**6.1 Chuẩn bị mẫu thử**

Nhìn chung, chỉ phân tích các phần ăn được của thực phẩm. Các phần ăn được của động vật có vỏ phải được rửa kỹ bằng nước và làm khô bằng cách thấm nhẹ với giấy lọc. Các phần phân tích phải được nghiền và trộn kỹ. Chúng có thể được bảo quản trong các vật chứa bằng thủy tinh hoặc nhôm kín trong điều kiện đông lạnh đến thời điểm phân tích.

6.2 Chiết mẫu

Cân khoảng 25 g phần mẫu thử đã chuẩn bị, chính xác đến 0,1 g, cho vào ống thủy tinh đáy tròn dung tích 250 mL (5.3). Thêm 100 mL dichloromethan (4.5), (V_1 , xem Điều 8). Trộn trong 3 min bằng máy trộn tốc độ cao (5.1).

Lọc phần hữu cơ phía dưới qua giấy lọc gấp nếp. Dịch chiết đã lọc phải trong, nếu không thì lặp lại bước này với natri sulfat khan (4.16) trên giấy lọc. Lọc một lượng dịch chiết đã lọc qua bộ lọc PTFE 0,20 µm hoặc 0,45 µm (5.15), sử dụng xyranh thủy tinh 5 mL (5.7) và làm sạch bằng SEC.

Trong trường hợp các mẫu dầu ăn, bước chiết mẫu được thay thế bằng cách chỉ phân tán mẫu trong dichloromethan như sau: Rót 5 mL dầu vào ống thủy tinh (5.17) trước đó đã cân bì và ghi lại khối lượng mẫu, chính xác đến 0,1 g. Thêm 5 mL dichloromethan (4.5), đậy nắp ống và đảo chiều để trộn lượng chứa bên trong. Sau đó, khuấy trộn một phút trong máy trộn Vortex (5.1) và lọc lượng hỗn hợp qua bộ lọc PTFE 0,20 µm hoặc 0,45 µm (5.15).

CHÚ THÍCH 1: Lượng dầu và dung môi có thể được thay đổi tùy thuộc vào sự tiện dụng, nhưng vẫn duy trì cùng một tỷ lệ 1 + 1 (ví dụ: 2 mL dầu + 2 mL dichloromethan).

Có thể sử dụng hỗn hợp gồm một phần thể tích cyclohexan và một phần thể tích ethyl acetat (4.15) làm dung môi chiết thay thế cho dichloromethan. Nếu vậy, cũng sử dụng hỗn hợp đó để cân bằng, rửa giải và rửa hệ thống SEC (xem 6.3).

CHÚ THÍCH 2: Hỗn hợp của một phần thể tích cyclohexan và một phần thể tích ethyl acetat cho thời gian rửa giải dài hơn trong SEC và độ thu hồi cuối cùng thấp hơn so với dichloromethan, mặc dù chúng luôn đáp ứng các yêu cầu quy định của EU (xem [3]).

6.3 Làm sạch SEC

Cân bằng toàn bộ hệ thống SEC (5.13) trước đó bằng cách cho dichloromethan đi qua, ở tốc độ 5 mL/min trong khoảng 30 min. Bơm 0,2 mL (V_2 , xem Điều 8) dịch chiết đã lọc vào hệ thống SEC. Rửa giải các PAH bằng cách cho dichloromethan đi qua, ở tốc độ dòng 5 mL/min. Thu lấy phân đoạn hoặc các phân đoạn tương ứng với thời gian rửa giải các PAH, theo thời gian rửa giải được thiết lập trong quá trình hiệu chuẩn hệ thống SEC. Các PAH được rửa giải thường từ 920 s đến 1 170 s trong các điều kiện quy định.

Sau khi rửa giải các PAH, cân bằng lại hệ thống SEC bằng cách cho dichloromethan đi qua trong thời gian không quá 10 min trước khi thực hiện lần bơm kế tiếp.

Làm bay hơi phân đoạn hoặc các phân đoạn thu được đến khô trong thiết bị làm bay hơi dưới dòng khí nitơ nhẹ (ví dụ: ở 34 kPa (= 5 psi) và 27 °C đến 28 °C) và hòa tan lại trong 1 mL acetonitril (4.6) (V_3 , xem Điều 8). Nếu HPLC không được thực hiện ngay thì bảo quản dịch chiết cuối cùng trong tủ lạnh.

7 Phân tích HPLC

7.1 Điều kiện vận hành HPLC

Khi sử dụng cột được quy định trong (5.14.5) và các pha động A và B được quy định trong 4.11 và 4.12 thì việc cài đặt như trong Bảng 1 là thích hợp:

Bảng 1 – Điều kiện gradient

Thời gian min	Tốc độ dòng mL/min	Pha động A %	Pha động B %
0	1	50	50
3	1	50	50
30	1	0	100
40	1	0	100
43	2	0	100
70	2	0	100
85	1	50	50

CHÚ THÍCH: Khí heli có thể được bơm hoặc tạo bọt vào các bể chứa của cả hai pha động A và B để khử khí. Bộ khử khí có thể được sử dụng tùy chọn. Một số máy bơm HPLC có bán sẵn có kèm hệ thống khử khí.

Chương trình bước sóng huỳnh quang nêu trong Bảng 2 đã được cho là thích hợp để phát hiện cả PAH4 (BaA, CHR, BbF và BaP) và 15 PAH phát huỳnh quang khác. Nếu mục tiêu của phép phân tích là chỉ xác định PAH4 thì điều kiện gradient (xem Bảng 1) có thể được chuyển sang điều kiện ban đầu sau khi rửa giải BaP (ở khoảng 32,4 min), để rút ngắn thời gian chạy: 50 % pha động A và 50 % pha động B. Do đó, bước sóng kích thích và bước sóng phát xạ (xem Bảng 2) cũng có thể được chuyển sang 230 nm (kích thích) và 357 nm (phát xạ).

Bảng 2 – Chương trình bước sóng huỳnh quang

Thời gian min	Bước sóng kích thích nm	Bước sóng phát xạ nm	Hệ số khuếch đại tín hiệu	PAH
0	230	357	1	BcL
23,80	280	410	10	BaA
25,30	270	385	10	CHR, 5MC
27,60	300	500	10	BjF, BbF
30,20	290	430	10	BkF, BaP, DIP, DhA, BgP
36,80	302	500	10	IcP
38,40	302	400	10	DeP
46,00	294	436	10	DiP
56,00	309	456	10	DhP

Có thể phát hiện CPP bằng cách thiết lập bước sóng detector UV tại 223 nm.

7.2 Chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn cho HPLC

Chuẩn bị ít nhất năm dung dịch hiệu chuẩn HPLC bằng cách dùng pipet chuyển các lượng dung dịch chuẩn làm việc PAH4 hoặc 15+1 PAH (4.20 hoặc 4.22) hoặc các dung dịch hiệu chuẩn của nồng độ thích hợp, như được nêu trong Bảng 3, vào một dãy các bình 5 mL (5.9) riêng rẽ. Thêm vào mỗi bình một lượng acetonitril thích hợp để đủ 5 mL. Các dung dịch này bao gồm dải nồng độ từ khoảng 0,06 µg/kg đến 100 µg/kg đối với từng PAH trong các điều kiện của quy trình này để phân tích dầu ăn và từ 0,12 µg/kg đến 200 µg/kg trong trường hợp khối lượng mẫu 25 g đối với các loại nền mẫu khác. Các dung dịch chuẩn từ 3 đến 11 trong Bảng 3 thu được bằng cách pha loãng các dung dịch chuẩn khác và không phải các dung dịch chuẩn làm việc. Người phân tích có thể lựa chọn các dung dịch hiệu chuẩn phù hợp cho dải nồng độ thích hợp nhất với mọi nhu cầu cụ thể.

Các dung dịch cần được bảo quản trong lọ có nắp đậy kín trong điều kiện lạnh. Các diện tích pic tương ứng với một PAH nhất định của cùng một dung dịch hiệu chuẩn được bơm đều đặn, phải nằm trong khoảng ± 3 %.

Bảng 3 – Chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn HPLC

Dung dịch hiệu chuẩn HPLC	Dung dịch chuẩn		Nồng độ từng PAH cuối cùng trong dung dịch hiệu chuẩn	
	Nồng độ	Thể tích		
	ng/mL	µL	ng/mL	m _a : ng (trong thể tích bơm 100 µL)
1	50,000	1 000	10,000	1,000 0
2	50,000	500	5,000	0,500 0
3	10,000	1 000	2,000	0,200 0
4	10,000	500	1,000	0,100 0
5	5,000	400	0,400	0,040 0
6	5,000	200	0,200	0,020 0
7	1,000	500	0,100	0,010 0
8	0,400	500	0,040	0,004 0
9	0,200	500	0,020	0,002 0
10	0,100	500	0,010	0,001 0
11	0,100	300	0,006	0,000 6

CHÚ THÍCH: Trong trường hợp hàm lượng bất kỳ PAH nào trong mẫu nằm ngoài dải hiệu chuẩn, thì có thể phải chuẩn bị một đường chuẩn thích hợp. Ngoài ra, có thể pha loãng dung dịch bơm mẫu đến hàm lượng PAH phù hợp với đường chuẩn đã thiết lập.

7.3 Đường chuẩn

Chuẩn bị đường chuẩn bằng cách bơm 100 µL của năm dung dịch hiệu chuẩn PAH khác nhau (xem 7.2). Dựng đường chuẩn từ diện tích pic so với khối lượng PAH được bơm và kiểm tra độ tuyến tính của đường chuẩn.

7.4 Xác định PAH trong dung dịch thử

Bơm các lượng 100 µL dung dịch thử vào thiết bị sắc ký, sử dụng các điều kiện tương tự như chuẩn bị đường chuẩn. Xác định từng pic của các PAH của dung dịch thử bằng cách so sánh thời gian lưu của mẫu với thời gian lưu của dung dịch chuẩn.

8 Tính kết quả

Từ đường chuẩn, xác định khối lượng của từng PAH bằng nanogam (ng) trong phần dung dịch thử được bơm vào cột HPLC. Tính phần khối lượng, w_{PAH} , của mỗi PAH tính bằng microgam trên kilogam (µg/kg), sử dụng Công thức (1):

$$w_{PAH} = m_a \times \frac{V_3 \times V_1}{V_4 \times V_2 \times m_s} \quad (1)$$

Trong đó:

m_a là khối lượng của từng PAH trong phần dung dịch thử được bơm và tương ứng với diện tích của từng pic PAH, tính bằng nanogam (ng);

V_3 là thể tích của dịch chiết cuối cùng, tính bằng mililit (thường là $V_3 = 1$ mL);

V_1 là thể tích của dịch chiết cuối cùng trong dichloromethan, tính bằng mililit (mL). Trong trường hợp với dầu ăn, thể tích là tổng của cả hai lượng dichloromethan và dầu ăn, tương ứng (thường là $V_1 = 100$ mL);

V_4 là thể tích được bơm vào cột HPLC, tính bằng mililit (thường là $V_4 = 0,1$ mL);

V_2 là thể tích của dịch chiết cho đi qua hệ thống SEC, tính bằng mililit (thường là $V_2 = 0,2$ mL);

m_s là khối lượng của mẫu được chiết, tính bằng gam (thường là $m_s = 25$ g).

9 Độ thu hồi

Độ thu hồi phải được xác định sử dụng các mẫu chuẩn đã được chứng nhận (CRM) hoặc các phương pháp khác, ví dụ: việc sử dụng chất thay thế như chất thêm chuẩn hoặc chất nội chuẩn (xem [4] và [5]).

Để phân tích bốn PAH (xem Tài liệu [3]), độ thu hồi phải có giá trị từ 50 % đến 120 %.

CHÚ THÍCH: Các CRM sau đây có sẵn: mẫu trắng PAH dầu dừa BCR[®]-459¹⁾, có sẵn tại Viện Chất chuẩn và Đo lường (IRMM), Geel, Bỉ (<http://irmm.jrc.ec.europa.eu/>) và SRM[®]-1974¹⁾ Organics in Mussel Tissue - *Mytilus edulis*, có sẵn tại Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia (NIST), Bộ Thương mại Hoa Kỳ (<http://www.nist.gov/index.html>).

10 Báo cáo thử nghiệm

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

- a) mọi thông tin cần thiết cho việc nhận biết đầy đủ về mẫu thử (loại mẫu, nguồn gốc và ký hiệu mẫu);
- b) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) ngày và kiểu lấy mẫu (nếu biết);
- d) ngày nhận mẫu;
- e) ngày thử nghiệm;
- f) kết quả thử nghiệm và các đơn vị biểu thị;
- g) các thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được coi là tùy chọn, có thể ảnh hưởng đến kết quả.
- h) thông tin bổ sung bất kỳ được yêu cầu.

11 Dữ liệu độ chụm

11.1 Yêu cầu chung

Chi tiết về dữ liệu độ chụm thu được trong nghiên cứu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm liên quan đến độ tái lập nội bộ phòng thử nghiệm được tóm tắt trong Phụ lục B và Phụ lục C.

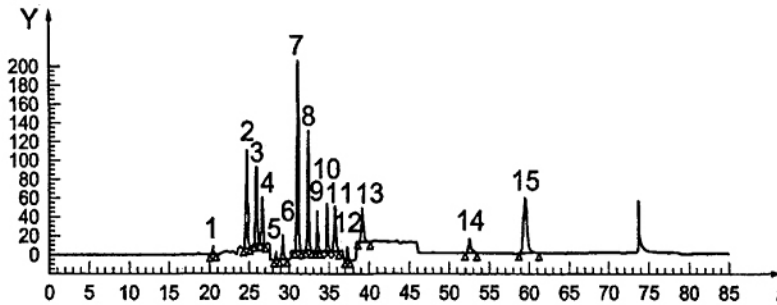
11.2 Độ tái lập nội bộ phòng thử nghiệm

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các điều kiện tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, không quá 5 % các trường hợp vượt quá độ tái lập nội bộ phòng thử nghiệm R .

¹⁾ BCR[®]-459 và SRM[®]-1974 là ví dụ về các sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không bắt buộc phải sử dụng sản phẩm nêu trên. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

Phụ lục A

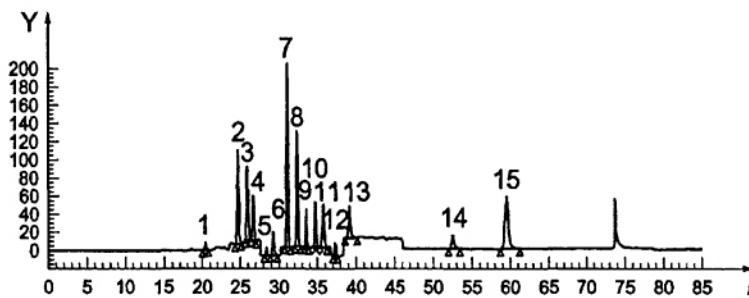
(Tham khảo)

Sắc ký đồ điển hình**CHÚ DẪN:** t = thời gian (min)

Y = huỳnh quang (mV)

Nhận diện pic	1 = BcL	2 = BaA	3 = CHR	4 = 5MC	5 = BjF
	6 = BbF	7 = BkF	8 = BaP	9 = DIP	10 = DhA
	11 = BgP	12 = IcP	13 = DeP	14 = DiP	15 = DhP

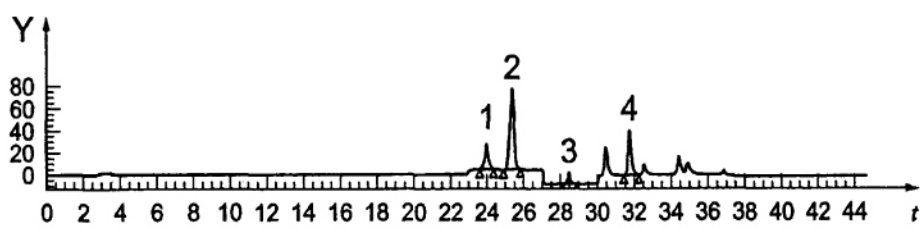
Hình A.1 – Sắc ký đồ điển hình của 15+1 PAH từ một mẫu vệt sổng thêm chuẩn ở mức 10 µg/kg cho từng PAH (CPP không thể phát hiện được bằng huỳnh quang ở mức này)

**CHÚ DẪN:** t = thời gian (min)

Y = huỳnh quang (mV)

Nhận diện pic	1 = BcL	2 = BaA	3 = CHR	4 = 5MC	5 = BjF
	6 = BbF	7 = BkF	8 = BaP	9 = DIP	10 = DhA
	11 = BgP	12 = IcP	13 = DeP	14 = DiP	15 = DhP

Hình A.2 – Sắc ký đồ điển hình của 15+1 PAH từ một mẫu dầu ôliu nguyên chất thêm chuẩn ở mức 2 µg/kg cho từng PAH (CPP không phát hiện được bằng huỳnh quang ở mức này)



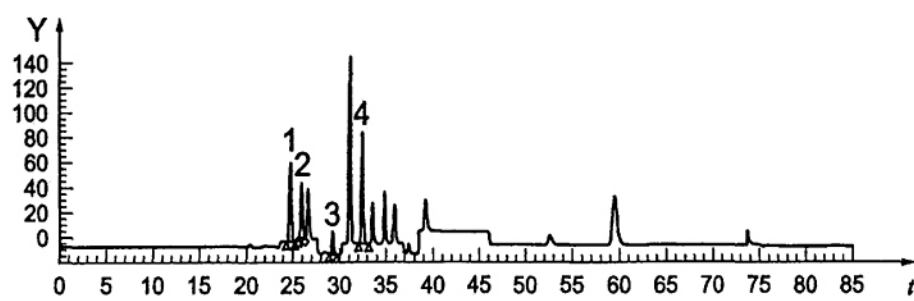
CHÚ DẪN:

t = thời gian (min)

Y = huỳnh quang (mV)

Nhận diện pic 1 = BaA 2 = CHR 3 = BbF 4 = BaP

Hình A.3 – Sắc ký đồ điện hình của PAH4 từ một mẫu chuẩn dầu ôliu chứa 2,06 µg/kg BaP, 3,17 µg/kg BaA, 2,40 µg/kg BbF và 9,52 µg/kg CHR, dưới điều kiện sắc ký đồ đặc hiệu để xác định PAH4



CHÚ DẪN:

t = thời gian (min)

Y = huỳnh quang (mV)

Nhận diện pic 1 = BaA 2 = CHR 3 = BbF 4 = BaP

Hình A.4 – Sắc ký đồ điện hình của PAH4 từ một mẫu thực phẩm ngũ cốc chế biến cho trẻ nhỏ thêm chuẩn 15+1 PAH ở mức 10 µg/kg mỗi chất, dưới điều kiện sắc ký đồ đặc hiệu để xác định 15+1 PAH. Sắc ký đồ cho thấy chỉ có PAH4.

Phụ lục B

(tham khảo)

Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm đối với PAH4 trong các nền mẫu

Chi tiết về dữ liệu độ thu hồi thu được trong nghiên cứu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm được tóm tắt trong Phụ lục B và Phụ lục C. Các dữ liệu độ thu hồi này thu được theo mẫu thêm chuẩn của từng loại nền mẫu thực phẩm. Trong một số trường hợp, các mẫu được sử dụng để thêm chuẩn đã chứa một lượng PAH nhất định.

Bảng B.1 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho dầu ôliu thực phẩm

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthen		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, $\mu\text{g/kg}$	0,39	2,36	22,00	0,42	2,10	22,83	1,24	3,13	24,22	0,55	2,52	25,06
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , $\mu\text{g/kg}$	0,10	0,17	1,42	0,03	0,32	2,15	0,09	0,21	2,31	0,08	0,17	0,86
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	25,6	7,2	6,4	7,1	15,2	9,4	7,2	6,7	9,5	14,5	6,7	3,4
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm $R [R = 2,8 \times SD_R]$, $\mu\text{g/kg}$	0,28	0,48	3,98	0,08	0,90	6,02	0,25	0,59	6,47	0,22	0,48	2,41
Độ thu hồi, %	84,8	99,4	100,9	95,9	87,8	97,3	105,6	98,5	99,5	91,4	100,1	105,8
Mức thêm chuẩn, $\mu\text{g/kg}$	0,41	2,34	23,34	0,40	2,35	23,41	0,41	2,37	23,53	0,41	2,37	23,53

Bảng B.2 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho vệt sống

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthen		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,36	2,12	9,25	0,46	2,49	9,75	0,38	2,91	10,33	0,54	2,98	10,47
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,04	0,19	1,23	0,05	0,20	1,24	0,05	0,25	1,23	0,09	0,28	1,29
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	11,1	9,0	13,3	10,9	8,0	12,7	13,2	8,6	11,9	16,7	9,4	12,3
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm $R [R = 2,8 \times SD_R]$, µg/kg	0,11	0,53	3,44	0,14	0,56	3,47	0,14	0,70	3,44	0,25	0,78	3,61
Độ thu hồi, %	73,3	95,1	91,1	92,4	101,8	93,2	76,7	99,4	94,0	108,6	99,6	94,7
Mức thêm chuẩn, µg/kg	0,50	1,98	9,90	0,50	1,98	9,95	0,50	2,00	10,00	0,54	2,00	10,00

Bảng B.3 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho cá xông khói

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthen		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,40	4,49	6,76	0,38	4,48	6,23	0,40	4,57	6,46	0,41	5,04	6,26
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,02	0,14	0,59	0,03	0,14	0,48	0,02	0,30	0,50	0,02	0,36	0,48
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	5,0	3,1	8,7	7,9	3,1	7,7	5,0	6,6	7,7	4,9	7,1	7,7
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm $R [R = 2,8 \times SD_R]$, µg/kg	0,06	0,39	1,65	0,08	0,39	1,34	0,06	0,84	1,40	0,06	1,01	1,34
Độ thu hồi, %	99,7	90,6	111,7	96,3	89,9	104,0	101,9	91,4	107,9	104,4	100,8	105,5
Mức thêm chuẩn, µg/kg	0,40	4,95	6,05	0,40	4,98	6,00	0,40	5,00	6,00	0,40	5,00	5,94

Bảng B.4 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho các sản phẩm thịt xông khói

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthene		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,38	1,83	4,70	0,37	1,74	4,78	0,39	1,76	4,67	0,39	1,94	4,66
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,02	0,06	0,26	0,03	0,09	0,40	0,02	0,12	0,31	0,02	0,09	0,15
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	5,3	3,3	5,5	8,1	5,2	8,4	5,1	6,8	6,6	5,1	4,6	3,2
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm $R [R = 2,8 \times SD_R]$, µg/kg	0,06	0,17	0,73	0,08	0,25	1,12	0,06	0,34	0,87	0,06	0,25	0,42
Độ thu hồi, %	94,6	92,4	95,5	93,0	87,6	96,6	98,5	88,0	92,7	98,5	97,2	93,5
Mức thêm chuẩn, µg/kg	0,40	1,98	4,93	0,40	1,99	4,95	0,40	2,00	4,95	0,40	2,00	4,98

Bảng B.5 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho sản phẩm ngũ cốc chế biến dành cho trẻ nhỏ

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthene		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,24	1,29	7,89	0,31	1,34	8,35	0,60	1,27	8,62	0,24	1,36	8,97
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,02	0,02	0,69	0,02	0,05	0,74	0,02	0,06	0,78	0,02	0	0,77
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	8,3	1,6	8,7	6,5	3,7	8,9	3,3	4,7	9,0	8,3	0	8,6
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm $R [R = 2,8 \times SD_R]$, µg/kg	0,06	0,06	1,93	0,06	0,14	2,07	0,06	0,17	2,18	0,06	0	2,16
Độ thu hồi, %	97,3	91,9	79,7	90,7	103,0	84,4	86,7	96,0	87,1	94,7	98,0	90,1
Mức thêm chuẩn, µg/kg	0,25	0,99	9,90	0,40	1,00	9,90	0,25	1,00	9,90	0,25	1,00	9,95

Bảng B.6 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho thức ăn công thức cho trẻ sơ sinh

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthen		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,94	4,21	8,37	1,06	4,30	8,52	1,02	4,39	8,69	1,10	4,65	9,13
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,03	0,27	0,29	0,03	0,26	0,03	0,03	0,23	0,09	0,03	0,15	0,26
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	3,2	6,4	3,5	2,8	6,0	0,4	2,9	5,2	1,0	2,7	3,2	2,8
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm R [$R=2,8 \times SD_R$], µg/kg	0,08	0,76	0,81	0,08	0,73	0,08	0,08	0,64	0,25	0,08	0,42	0,73
Độ thu hồi, %	94,0	85,0	84,5	106,3	86,9	86,1	102,3	88,8	87,8	103,8	93,5	91,8
Mức thêm chuẩn, µg/kg	1,00	4,95	9,90	1,00	4,95	9,90	1,00	4,95	9,90	1,06	4,98	9,95

Bảng B.7 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho sôcôla

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthen		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,48	1,85	4,53	0,42	1,78	4,53	0,60	2,13	4,68	0,57	2,13	4,81
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,04	0,30	0,21	0,01	0,24	0,21	0,03	0,32	0,20	0,02	0,27	0,21
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	8,3	16,2	4,6	2,4	13,5	4,6	5,0	15,0	4,2	3,5	12,7	4,4
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm R [$R=2,8 \times SD_R$], µg/kg	0,11	0,84	0,59	0,03	0,67	0,59	0,08	0,90	0,56	0,06	0,76	0,59
Độ thu hồi, %	91,1	87,1	87,0	87,6	82,8	91,7	95,6	91,8	89,2	98,2	96,1	96,7
Mức thêm chuẩn, µg/kg	0,40	1,98	4,95	0,40	1,98	4,95	0,40	1,98	4,95	0,40	1,99	4,98

Bảng B.8 – Dữ liệu xác nhận nội bộ phòng thử nghiệm cho thực phẩm bổ sung (isoflavon)

	Benzo[a]pyren			Benz[a]anthracen			Chrysen			Benzo[b]fluoranthren		
Giá trị trung bình, $\bar{x}$, µg/kg	0,35	2,06	8,22	0,46	2,26	8,06	0,4	2,03	8,20	0,46	2,22	8,76
Độ lệch chuẩn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm, SD_R , µg/kg	0,04	0,09	0,02	0,01	0,02	0,23	0,03	0,06	0,17	0,02	0,08	0,08
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	11,4	4,4	0,2	2,2	0,9	2,9	7,5	3,0	2,1	4,3	3,6	0,9
Giới hạn tái lập nội bộ phòng thử nghiệm R [$R = 2,8 \times SD_R$], µg/kg	0,11	0,25	0,06	0,03	0,06	0,64	0,08	0,17	0,48	0,06	0,22	0,22
Độ thu hồi, %	84,4	99,0	83,0	105,5	108,2	81,4	95,4	96,6	82,8	105,0	104,6	88,0
Mức thêm chuẩn, µg/kg	0,42	2,08	9,90	0,42	2,09	9,90	0,42	2,10	9,90	0,42	2,10	9,95

Phụ lục C
(tham khảo)

**Dữ liệu hiệu năng nội bộ với hỗn hợp cyclohexan và ethyl acetat
làm dung môi chiết thay thế**

Bảng C.1 – Dữ liệu hiệu năng nội bộ phòng thử nghiệm đối với dầu ôliu

	BaA	CHR	BbF	BaP
Giới hạn định lượng (LOQ), µg/kg	0,50	0,50	0,51	0,50
Độ thu hồi, %	78,0	86,0	93,5	85,3
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD _R , %	3,9	12,0	4,8	2,1
Mức thứ hai, µg/kg	1,99	1,99	2,00	1,99
Độ thu hồi, %	73,9	67,3	87,8	94,8
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD _R , %	4,5	11,9	9,0	2,6
Mức thứ ba, µg/kg	9,96	9,96	10,01	9,96
Độ thu hồi, %	62,4	65,1	74,7	73,9
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD _R , %	1,2	0,9	5,9	0,6

Bảng C.2 – Dữ liệu hiệu năng nội bộ phòng thử nghiệm đối với vẹm sống

	BaA	CHR	BbF	BaP
Mức, µg/kg	1,98	198	1,99	1,98
Độ thu hồi, %	88,0	82,7	92,0	103,2
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD _R , %	9,5	15,9	16,2	9,8

Bảng C.3 – Dữ liệu hiệu năng nội bộ phòng thử nghiệm đối với cá xông khói

	BaA	CHR	BbF	BaP
Giới hạn định lượng (LOQ), µg/kg	0,50	0,50	0,50	0,50
Độ thu hồi, %	81,3	62,7	96,0	81,3
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	4,2	14,6	3,6	4,2
Mức thứ hai, µg/kg	9,90	9,90	9,95	9,90
Độ thu hồi, %	70,0	76,8	84,1	85,1
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	4,7	6,9	4,8	3,6

Bảng C.4 – Dữ liệu hiệu năng nội bộ phòng thử nghiệm đối với thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh

	BaA	CHR	BbF	BaP
Giới hạn định lượng (LOQ), µg/kg	0,40	0,40	0,41	0,40
Độ thu hồi, %	70,8	59,2	92,7	83,3
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	6,2	15,9	4,1	5,3
Mức thứ hai, µg/kg	4,95	4,95	4,98	4,95
Độ thu hồi, %	60,2	65,3	73,5	74,4
Độ lệch chuẩn tái lập tương đối nội bộ phòng thử nghiệm, RSD_R , %	8,4	7,7	4,5	9,8

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 10482 (ISO 22959), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Xác định hydrocacbon thơm đa vòng bằng sắc ký phức chất cho-nhận trực tiếp và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) có detector huỳnh quang*
 - [2] TCVN 9531 (ISO 15753), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Xác định các hydrocacbon thơm đa vòng*
 - [3] Commission Regulation (EU) No 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs
 - [4] Eurachem Guide, (1998), *The fitness for Purpose of Analytical Methods - a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*
 - [5] THOMPSON M., ELLISON S.L.R., WOOD R. Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis. IUPAC Technical Report. *Pure Appl. Chem.* 2002, **74** pp. 835-855.
-