

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 11942:2017**

Xuất bản lần 1

**THỦY SẢN VÀ SẢN PHẨM THỦY SẢN - XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT MÀU TRIPHENYLMETAN VÀ CÁC CHẤT CHUYỂN HOÁ CỦA CHÚNG - PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG PHỔ KHỐI LƯỢNG HAI LẦN (LC-MS/MS)**

*Fish and fishery products - Determination of triphenylmethane dyes residues and their metabolites - Liquid chromatographic with tandem mass spectroscopy (LC-MS/MS) method*

**HÀ NỘI - 2017**

**Lời nói đầu**

TCVN 11942:2017 được xây dựng trên cơ sở tham khảo AOAC 2012.25 *Residues of three triphenylmethane dyes and their metabolites (malachite green, leuco malachite green, crystal violet, leuco crystal violet, and brilliant green) in aquaculture products. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry*;

TCVN 11942:2017 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F11 *Thủy sản và sản phẩm thủy sản* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

## Thủy sản và sản phẩm thủy sản – Xác định dư lượng các hợp chất màu triphenylmetan và các chất chuyển hóa của chúng – Phương pháp sắc ký lỏng phổ khối lượng hai lần (LC-MS/MS)

*Fish and fishery products – Determination of triphenylmethane dyes residues and their metabolites – Liquid chromatographic with tandem mass spectroscopy (LC-MS/MS) method*

**CẢNH BÁO** – Các hợp chất màu triphenylmetan và các chất chuyển hoá leuco là chất độc hại và được biết hoặc nghi ngờ gây đột biến, gây ung thư và/hoặc gây dị tật bẩm sinh. Cần tuân thủ qui định về xử lý hóa chất, mang kính an toàn, thiết bị bảo hộ cá nhân thích hợp và loại bỏ chất thải theo các qui định về môi trường.

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định dư lượng các hợp chất màu triphenylmetan và các chất chuyển hóa của chúng [malachite green (MG), leuco malachite green (LMG), crystal violet (CV), leuco crystal violet (LCV), brilliant green (BG)] trong thủy sản và sản phẩm thủy sản bằng sắc ký lỏng-phổ khối lượng hai lần (LC-MS/MS).

Phương pháp này đã được đánh giá liên phòng trên cá hồi, cá da trơn và tôm.

### 2 Nguyên tắc

Các hợp chất màu triphenylmetan và các chất chuyển hoá leuco của chúng được chiết ra khỏi mẫu thử bằng axetonitril, với sự có mặt của hydroxylamin và magie sulfat khan. Sau khi làm bay hơi dịch chiết, phần còn lại được hòa tan trong axetonitril/axit ascorbic, sau đó được phân tích bằng sắc ký lỏng phổ khối lượng hai lần. Phân tích định lượng, sử dụng chất hiệu chuẩn nền mẫu và bốn chất nội chuẩn gắn đồng vị để hiệu chỉnh các ảnh hưởng của nền mẫu và hao hụt do quá trình chiết.

### 3 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích dùng cho HPLC hoặc LC-MS và nước sử dụng phải là nước đã khử ion, trừ khi có quy định khác.

3.1 Axetonitril.

3.2 Hydroxylamin hydroclorua.

3.3 Magie sulfat, khan.

3.4 Amoni format.

3.5 Axit ascorbic.

3.6 Axit formic (100 %).

3.7 Malachit green oxalat (MG oxalate, Số C.A.S: 2437-29-8).

3.8 Leuco malachit green (LMG, Số C.A.S: 129-73-7).

3.9 Crystal violet clorua (CV chloride, Số C.A.S: 548-62-9).

3.10 Leuco crystal violet (LCV, Số C.A.S: 603-48-5).

3.11 Brilliant green (BG, Số C.A.S: 633-03-4).

3.12 D5-malachite green picrate (D5-MG picrate, Số C.A.S: 1258668-21-1).

3.13 D5-leuco malachite green (D5-LMG, Số C.A.S: 947601-82-3).

3.14 D6-crystal violet trihydrat (D6-CV trihydrat).

3.15 D6-leuco crystal violet (D6-LCV, Số C.A.S: 1173023-92-1).

3.16 Dung dịch hydroxylamin trong nước, nồng độ hydroxylamin 9,5 g/l.

Hòa tan 5,0 g hydroxylamin hydroclorua (3.2) trong nước và thêm nước đến 250 ml.

3.17 Dung dịch axit ascorbic trong nước, 1 g/l.

Hòa tan 100 mg axit ascorbic (3.5) trong nước và thêm nước đến 100 ml.

3.18 Dung dịch hoàn nguyên

Phối trộn 1 ml dung dịch axit ascorbic 1 g/l (3.17) với 100 ml axetonitril (3.1) và trộn đều.

### 3.19 Dung dịch axit formic trong nước, 5 % (thể tích).

Cho 5 ml axit formic đặc (3.6) vào khoảng 90 ml nước đựng trong bình định mức 100 ml, thêm nước đến 100 ml.

### 3.20 Dung dịch đệm amoni format, 0,05 M, pH 4,5.

Hòa tan 3,15 g amoni format (3.4) với khoảng 900 ml nước đựng trong bình định mức 1 000 ml. Sau đó thêm 5 ml dung dịch axit formic (3.16) và thêm nước đến 1 000 ml.

### 3.21 Dung dịch chuẩn gốc

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn gốc đơn lẻ của từng hợp chất màu, chất chuyển hóa và chất nội chuẩn ở nồng độ 100 µg/ml trong axetonitril, có tính đến độ tinh khiết và sự có mặt của các hợp chất gây ảnh hưởng.

Bảo quản dung dịch này ở - 20 °C trong bình thủy tinh tối màu. Dung dịch bền đến một tháng khi bảo quản ở điều kiện này.

### 3.22 Dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp (hàm lượng từng hợp chất 1 µg/ml) đối với các chất phân tích (chứa MG, LMG, CV, LCV và BG) và các chất nội chuẩn (chứa D5-MG, D5-LMG, D6-CV và D6-LCV). Để chuẩn bị từng dung dịch này, phối trộn 1 ml dung dịch gốc đơn lẻ (3.21) và thêm axetonitril đến 100 ml.

Bảo quản dung dịch này ở - 20 °C trong bình thủy tinh tối màu. Dung dịch bền đến một tháng khi bảo quản ở điều kiện này.

### 3.23 Dung dịch chuẩn làm việc

Chuẩn bị sáu dung dịch chuẩn làm việc bằng cách pha loãng các thể tích 0 µl, 50 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl và 1 000 µl dung dịch chuẩn trung gian hỗn hợp của chất phân tích (3.22) bằng axetonitril đến thể tích cuối cùng là 10 ml. Các dung dịch này có nồng độ chất phân tích tương ứng là 0 µg/l, 5 µg/l, 10 µg/l, 20 µg/l, 50 µg/l và 100 µg/l.

Chuẩn bị tất cả dung dịch chuẩn làm việc trong ngày. Dung dịch có thể được bảo quản ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

### 3.24 Dung dịch chuẩn làm việc của chất nội chuẩn

Chuẩn bị dung dịch chuẩn làm việc của chất nội chuẩn bằng cách lấy 400 µl dung dịch nội chuẩn trung gian hỗn hợp (3.22) và thêm axetonitril đến 10 ml (nồng độ cuối cùng 40 µg/l).

Chuẩn bị tất cả dung dịch chuẩn làm việc trong ngày. Dung dịch có thể được bảo quản ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

### 3.25 Cacbon đioxit (CO<sub>2</sub>) rắn.

### 3.26 Khí nitơ.

### 3.27 Mẫu thử kiểm soát âm tính.

## 4 Thiết bị, dụng cụ

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

### 4.1 Máy trộn vortex

4.2 Máy khuấy quay, tốc độ 100 r/min hoặc máy trộn vortex nhiều ống, tốc độ 2 500 r/min hoặc loại tương đương.

4.3 Máy ly tâm, phù hợp với các ống ly tâm polypropylen dung tích 50 ml (hoặc loại tương đương), có thể đạt gia tốc đến 2 000 g và có thể làm lạnh mẫu đến 4 °C.

4.4 Pipet, dùng một lần.

4.5 Bộ làm bay hơi bằng nitơ, có khả năng làm nóng các ống mẫu đến 50 °C

4.6 Ống làm bay hơi, các ống polypropylen dung tích từ 10 ml đến 15 ml hoặc loại tương đương.

4.7 Máy ly tâm cỡ nhỏ, phù hợp với các ống ly tâm dung tích 800 µl, có gia tốc đến 20 000 g.

4.8 Màng lọc xyranh PVDF (polyvinyliden fluoride), cỡ lỗ 0,45 µm, dài 13 mm (ví dụ: EMD Millipore Corp., Billerica, MA) và xyranh dùng một lần dung tích 1 ml, hoặc loại tương đương.

4.9 Lọ nhỏ dùng để lấy mẫu tự động, bằng thủy tinh hoặc polypropylen, có nắp vặn. Nên sử dụng lọ tối màu để bảo vệ các hợp chất nhạy với ánh sáng.

4.10 Hệ thống sắc ký lỏng-phổ khối lượng hai lần, ví dụ gồm các bộ phận sau:

- bơm;
- bộ khử khí dung môi;

- bộ lấy mẫu tự động;
- lò cột (ví dụ: Waters Corp. 2695, Agilent 1200 series, hoặc loại tương đương).
- Hệ thống máy đo phổ khối lượng ba tứ cực được trang bị nguồn ion hóa phun điện tử để hoạt động ở chế độ ion dương và có khả năng theo dõi phản ứng chọn lọc (SRM) có ít nhất hai quá trình chuyển tiếp cho chất phân tích và một quá trình chuyển tiếp cho chất nội chuẩn (ví dụ: Waters Corp. Quattro LCZ, Agilent 6490, hoặc loại tương đương).

**4.11 Cột sắc ký (LC)**, pha tĩnh C18 (dài 100 mm, đường kính trong 2,1 mm, cỡ hạt 3,5  $\mu\text{m}$ ) có cột bảo vệ C18 (ví dụ: dài 10 mm, đường kính trong 2,1 mm; Waters Corp. Symmetry), hoặc loại tương đương.

**4.12 Máy nghiền.**

**4.13 Cân phân tích.**

## 5 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này.

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

## 6 Cách tiến hành

### 6.1 Chuẩn bị mẫu

Đồng hóa mẫu thử bằng cacbon đioxit rắn (3.25) trong máy nghiền (4.12) để tạo được mẫu bột mịn. Đối với cá hồi, đồng hóa phần cơ thịt cùng với da; đối với cá da trơn thì chỉ đồng hóa cá phi lê, bỏ da; đối với tôm, loại bỏ vỏ, chân và đầu tôm trước khi đồng hóa.

Thăng hoa cacbon đioxit rắn ở - 20 °C sau đó bảo quản mẫu đã đồng nhất ở - 80 °C.

### 6.2 Mẫu dùng để dựng đường chuẩn trên nền mẫu

Cân chính xác 2,00 g ( $\pm 0,02$  g) phần mẫu thử kiểm soát âm tính (3.27) đã đồng nhất vào từng ống của sáu ống ly tâm dùng một lần dung tích 50 ml (4.7). Sau khi rã đông xong, bổ sung tương ứng 100  $\mu\text{l}$  các dung dịch chuẩn làm việc (3.23) vào các mẫu này. Thêm 100  $\mu\text{l}$  dung dịch làm việc nội chuẩn (3.24) vào mỗi ống. Các mẫu dùng để dựng đường chuẩn trên nền mẫu được bổ sung chất phân tích với nồng độ tương ứng 0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 0,25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 2,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , và 5,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  và chất nội chuẩn với nồng độ 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Để mẫu này cân bằng 15 min, tránh ánh sáng trước khi bắt đầu chiết bằng dung dịch hydroxylamin.

### 6.3 Chiết mẫu

Cân chính xác 2,00 g ( $\pm 0,02$  g) phần mẫu thử mẫu đã đồng hóa vào ống ly tâm dùng một lần dung tích 50 ml và để ráo đông. Bổ sung vào mẫu đã ráo đông 100  $\mu$ l dung dịch làm việc nội chuẩn (3.24) để có nồng độ cuối cùng của chất phân tích là 2,0  $\mu$ g/kg. Để cho mẫu cân bằng trong 15 min, tránh ánh sáng. Thêm 500  $\mu$ l dung dịch hydroxylamin (3.16) vào mẫu, trộn đều vortex, nhanh và để yên mẫu ở nơi tối trong 10 min. Thêm 8 ml axetonitril (3.1) và 1,0 g ( $\pm 0,1$  g) magie sulfat khan (3.3) vào mỗi ống. Trộn đều vortex các ống (tốc độ tối đa 1 min), sau đó lắc các ống trong 10 min, dùng máy khuấy quay (4.2) hoặc máy trộn vortex nhiều ống (4.1). Ly tâm các ống 2 000 g trong 5 min, ở 4 °C và chuyển tất cả dịch nổi phía trên vào ống sạch để làm bay hơi. Làm bay hơi dịch này đến khô (bằng khí nitơ ở 50 °C).

CHÚ THÍCH: Đối với nền mẫu cá hồi, khi khô vẫn có thể ở trạng thái nhớt do có mặt dầu cá.

Hòa lại cặn thu được với 800  $\mu$ l dung dịch hoàn nguyên (3.18). Trộn đều vortex tất cả các mẫu đủ để xáo trộn dịch chiết khô; ví dụ trộn đều vortex ở tốc độ cao trong 30 min sau đó trộn đều trong 10 min trên máy trộn vortex nhiều ống (4.1) đảm bảo hòa tan hết chất phân tích và chất nội chuẩn. Chuyển các dịch chiết vào ống ly tâm nhỏ, ly tâm 20 000 g trong 5 min và lọc (4.8) vào lọ lấy mẫu tự động dùng cho phân tích LC-MS/MS.

Hệ số cô đặc trong quá trình chiết là 2,5, vì vậy chất hiệu chuẩn hoặc mẫu thử được bổ sung ở 1,0  $\mu$ g/kg sẽ cho dịch chiết có nồng độ tương đương 2,5  $\mu$ g/l trong lọ nhỏ dùng cho sắc ký lỏng.

### 6.4 Phân tích bằng LC-MS/MS

#### 6.4.1 Sắc ký lỏng

Sử dụng cột sắc ký (4.11), có hoặc không có cột bảo vệ. Pha động được tạo thành từ dung dịch đệm amoni format (3.20) và axetonitril (3.1). Chương trình gradient được qui định trong Bảng 1. Tốc độ dòng là 250  $\mu$ l/min, thể tích bơm là 20  $\mu$ l và lò cột được cài đặt ở 30 °C. Có thể giảm sự nhiễm chéo bằng cách bơm nước giữa mỗi mẫu thử.

Bảng 1 – Chương trình gradient rửa giải LC

Thời gian, min	Dung dịch pha động A (dung dịch đệm amoni format) %	Dung dịch pha động B (axetonitril) %
0	60	40
1	10	90
15	10	90
16	60	40
20	60	40



#### 6.4.2 Phổ khối lượng ba tứ cực

Sử dụng thiết bị phổ khối lượng ba tứ cực (4.10). Máy đo phổ khối lượng được vận hành ở chế độ ion dương, sử dụng nguồn ion hóa phun điện tử. Hai quá trình chuyển tiếp được thu nhận đối với từng chất phân tích và một quá trình chuyển tiếp SRM được thu nhận đối với từng chất nội chuẩn, quá trình chuyển tiếp này được qui định trong Bảng 2, cùng với các thông số của thiết bị đối với hệ thống Quattro LCZ. Các điều kiện được tối ưu hóa sao cho tất cả các quá trình chuyển tiếp SRM đối với chất hiệu chuẩn dung môi có nồng độ thấp nhất có mặt với khả năng chấp nhận tỷ số S/N (tín hiệu/nhiều) ( $\geq 3$ ).

**Bảng 2 – Ví dụ về các thông số MS/MS đối với hệ thống Waters Corp Quattro LCZ**

	SRM, m/z	Năng lượng va chạm, eV	Điện áp cone, V	Thời gian lưu, min
MG	329 → 313 <sup>a</sup>	35	43	5,1
	329 → 208	35	43	5,1
D5-MG	334 → 318	40	30	5,1
CV	372 → 356 <sup>ab</sup>	40	25	5,6
	372 → 251 <sup>b</sup>	35	25	5,6
D6-CV	378 → 362	40	25	5,6
BG	385 → 341 <sup>a</sup>	35	35	6,0
	385 → 297	50	35	6,0
LMG	331 → 239 <sup>a</sup>	25	25	7,8
	331 → 316	20	25	7,8
D5-LMG	336 → 239	25	25	7,8
LCV	374 → 358 <sup>a</sup>	30	25	7,9
	374 → 239	25	25	7,9
D6-LCV	380 → 364	35	25	7,9
LBG	387 → 342 <sup>a</sup>	30	25	10,9
	387 → 281	30	25	10,9

<sup>a</sup> Quá trình chuyển tiếp ion sản phẩm được dùng để định lượng.

<sup>b</sup> Năm phòng thử nghiệm sử dụng quá trình chuyển tiếp bổ sung (m/z 372 → m/z 340) để định lượng hoặc nhận biết.

## 6.5 Sàng lọc

Phương pháp này có thể được dùng để sàng lọc (định tính) mẫu thử dựa vào đường chuẩn đơn lẻ hoặc để định lượng các mẫu, sử dụng đường chuẩn. Việc sàng lọc được thực hiện bằng cách chiết mẫu thử song song với mẫu kiểm soát nền âm tính và mẫu được thêm chuẩn ở 0,5 µg/kg. Đối với mẫu thêm chuẩn, nồng độ của mẫu thử ước tính được bằng cách so sánh tỷ lệ diện tích pic ion của mẫu, chất nội chuẩn với tỷ lệ tương ứng của mẫu thêm chuẩn. Để khẳng định các mẫu dương tính còn nghi ngờ, cần chiết và phân tích mẫu thử hai lần song song với dải chất hiệu chuẩn được thêm chuẩn (bao gồm kiểm chứng âm tính). Sử dụng đường chuẩn theo phương pháp định lượng được nêu trong 6.6 để định lượng mẫu thử.

## 6.6 Định lượng

### 6.6.1 Chất nội chuẩn

D5-MG được sử dụng làm chất nội chuẩn cho cả MG và BG. Tất cả các chất phân tích khác có chất nội chuẩn gắn đồng vị (D5-LMG, D6-CV và D6-LCV) tương ứng với chất phân tích.

### 6.6.2 Dụng đường chuẩn

Đối với mỗi chất phân tích, dụng đường chuẩn của tỷ lệ diện tích pic ion chất phân tích và diện tích pic ion chất nội chuẩn tương ứng (trục y) theo nồng độ (trục x) đối với mẫu hiệu chuẩn nền mẫu. Hệ số hồi quy tuyến tính  $R^2 \geq 0,95$ .

## 7 Tính kết quả

Nồng độ của chất phân tích trong mẫu thử, X, biểu thị bằng microgam trên kilogam (µg/kg), được tính theo Công thức (1):

$$X = \frac{Y - b}{a \times F} \quad (1)$$

Trong đó:

- Y là tỷ lệ diện tích pic ion chất phân tích và diện tích pic ion chất nội chuẩn tương ứng trong mẫu thử;
- b là giao điểm của đường chuẩn với trục tung (y);
- a là độ dốc của đường chuẩn (6.5.2);
- F là hệ số cô đặc trong quá trình chiết mẫu (ở đây  $F = 2,5$ ).

## 8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- 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 và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc những điều được coi là tự chọn, và bất kỳ chi tiết nào có ảnh hưởng tới kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được.

## Phụ lục A

(Tham khảo)

Bảng A.1 – Kết quả thống kê dữ liệu nghiên cứu liên phòng thử nghiệm

Nền mẫu	Chất phân tích được bổ sung, µg/kg	Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ thống kê <sup>a</sup>	Số lượng phòng thử nghiệm	Số lần lặp lại <sup>b</sup>	Độ đúng (độ thu hồi, %)	Nồng độ trung bình, µg/kg	Độ lệch chuẩn lặp lại $S_r$	Độ lệch chuẩn tái lập $S_R$	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại RSD <sub>r</sub> , %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD <sub>R</sub> , %	Giá trị HorRat
MG											
Cá hồi	0,42	10 <sup>c</sup> , 2 <sup>d</sup>	12	24	92,8	0,39	0,02	0,05	5,53	13,76	0,26
	0,90	Không	14	28	92,2	0,83	0,05	0,13	6,13	16,22	0,35
	1,75	Không	14	28	89,7	1,57	0,06	0,16	3,84	10,33	0,24
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		1,48	0,10	0,36	6,46	24,06	0,56
Cá da trơn	0,42	12 <sup>d</sup> , 3 <sup>e</sup> , 11 <sup>e</sup>	11	22	90,5	0,38	0,04	0,05	10,64	14,15	0,27
	0,90	7 <sup>c</sup> , 12 <sup>d</sup>	12	24	77,8	0,70	0,04	0,23	5,31	32,61	0,68
	1,75	12 <sup>d</sup>	13	25	79,4	1,39	0,09	0,36	6,79	25,87	0,60
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		3,23	0,18	1,18	5,47	36,38	0,96

Bảng A.1 (tiếp theo)

Nền mẫu	Chất phân tích được bổ sung, µg/kg	Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ thống kê <sup>a</sup>	Số lượng phòng thử nghiệm	Số lần lặp lại <sup>b</sup>	Độ đúng (độ thu hồi, %)	Nồng độ trung bình, µg/kg	Độ lệch chuẩn lặp lại $s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập $s_R$	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại $RSD_r, %$	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập $RSD_R, %$	Giá trị HorRat
<b>MG</b>											
Cá hồi	0,42	10 <sup>c</sup> , 2 <sup>d</sup>	12	24	92,8	0,39	0,02	0,05	5,53	13,76	0,26
	0,90	Không	14	28	92,2	0,83	0,05	0,13	6,13	16,22	0,35
	1,75	Không	14	28	89,7	1,57	0,06	0,16	3,84	10,33	0,24
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		1,48	0,10	0,36	6,46	24,06	0,56
Cá da trơn	0,42	12 <sup>d</sup> , 3 <sup>e</sup> , 11 <sup>e</sup>	11	22	90,5	0,38	0,04	0,05	10,64	14,15	0,27
	0,90	7 <sup>c</sup> , 12 <sup>d</sup>	12	24	77,8	0,70	0,04	0,23	5,31	32,61	0,68
	1,75	12 <sup>d</sup>	13	25	79,4	1,39	0,09	0,36	6,79	25,87	0,60
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		3,23	0,18	1,18	5,47	36,38	0,96
Tôm	0,42	Không	13	26	100,0	0,42	0,04	0,14	9,82	32,31	0,63
	0,90	Không	13	26	97,8	0,88	0,08	0,22	9,37	25,55	0,55
	1,75	4 <sup>c</sup>	12	24	88,0	1,54	0,09	0,56	6,04	36,06	0,85
	0,75	Không	13	26	94,7	0,71	0,05	0,16	6,98	22,54	0,47

Bảng A.1 (tiếp theo)

Nền mẫu	Chất phân tích được bổ sung, µg/kg	Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ thống kê <sup>a</sup>	Số lượng phòng thử nghiệm	Số lần lặp lại <sup>b</sup>	Độ đúng (độ thu hồi, %)	Nồng độ trung bình, µg/kg	Độ lệch chuẩn lặp lại $s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập $s_R$	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại RSD <sub>r</sub> , %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD <sub>R</sub> , %	Giá trị HorRat
LMG											
Cá hồi	0,42	2d,10e,14e	11	22	97,6	0,41	0,02	0,03	3,94	6,72	0,13
	0,90	10d	13	26	103,3	0,93	0,03	0,06	3,11	6,59	0,14
	1,75	Không	14	28	97,1	1,70	0,09	0,19	5,14	11,17	0,27
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		0,81	0,03	0,12	3,57	14,25	0,31
Cá da trơn	0,42	12d	13	26	104,8	0,44	0,01	0,02	2,89	5,45	0,11
	0,90	12d,5e,6e	11	22	107,8	0,97	0,03	0,03	2,84	3,50	0,08
	1,75	12d	13	25	101,1	1,77	0,08	0,10	4,71	5,91	0,14
	Mẫu đã nhiễm	12c	13	26		2,39	0,05	0,16	2,20	6,81	0,17
Tôm	0,42	11c	13	26	102,4	0,43	0,01	0,04	3,22	8,98	0,17
	0,90	Không	14	28	106,7	0,96	0,04	0,07	3,69	7,07	0,16
	1,75	Không	14	28	101,7	1,78	0,07	0,16	4,14	8,81	0,21
	0,76	4e	13	26	99,8	0,76	0,03	0,05	3,64	6,22	0,13

Bảng A.1 (tiếp theo)

Nền mẫu	Chất phân tích được bổ sung, µg/kg	Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ thống kê <sup>a</sup>	Số lượng phòng thử nghiệm	Số lần lặp lại <sup>b</sup>	Độ đúng (độ thu hồi, %)	Nồng độ trung bình, µg/kg	Độ lệch chuẩn lặp lại $s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập $S_R$	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại $RSD_r, \%$	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập $RSD_R, \%$	Giá trị HorRat
CV											
Cá hồi	0,42	2d,13d	12	24	102,4	0,43	0,02	0,03	4,22	6,15	0,12
	0,90	11c	13	26	103,3	0,93	0,05	0,11	5,49	11,38	0,25
	1,75	11c	13	26	99,4	1,74	0,05	0,18	3,06	10,36	0,25
	Mẫu đã nhiễm	11c1	3	26		0,03	0,01	0,05	42,14	159,6	2,10
Cá da trơn	0,42	14c	12	24	102,4	0,43	0,02	0,05	5,15	11,04	0,21
	0,90	Không	13	26	103,3	0,93	0,04	0,11	4,20	12,28	0,27
	1,75	14c	12	23	98,3	1,72	0,03	0,17	3,66	10,10	0,24
	Mẫu đã nhiễm	14c,6c	11	22		0,15	0,04	0,05	28,64	31,77	0,53
Tôm	0,42	Không	14	28	102,4	0,43	0,06	0,09	13,21	21,41	0,42
	0,90	14d	13	26	104,9	0,94	0,03	0,10	3,11	10,70	0,23
	1,75	14c	13	26	99,4	1,74	0,05	0,23	3,10	13,09	0,31
	0,85	2d,8c	12	24	97,6	0,83	0,02	0,07	2,30	8,70	0,19

Bảng A.1 (tiếp theo)

Nền mẫu	Chất phân tích được bổ sung, µg/kg	Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ thống kê <sup>a</sup>	Số lượng phòng thử nghiệm	Số lần lặp lại <sup>b</sup>	Độ đúng (độ thu hồi, %)	Nồng độ trung bình, µg/kg	Độ lệch chuẩn lặp lại $s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập $s_R$	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại RSD <sub>r</sub> , %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD <sub>R</sub> , %	Giá trị HorRat
LCV											
Cá hồi	0,42	2d	13	26	97,6	0,41	0,02	0,05	5,09	11,26	0,22
	0,90	Không	14	28	102,2	0,92	0,05	0,09	5,50	9,48	0,21
	1,75	11c,3c	12	24	102,8	1,80	0,04	0,15	2,19	8,10	0,20
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		0,39	0,02	0,06	6,17	14,63	0,28
Cá da trơn	0,42	12d	13	26	109,5	0,46	0,02	0,05	4,60	10,34	0,20
	0,90	12d	13	26	107,8	0,97	0,03	0,08	3,38	8,04	0,18
	1,75	4c,12d	12	23	103,4	1,81	0,06	0,11	3,19	6,30	0,15
	Mẫu đã nhiễm	12c	13	26	4,04	0,16	0,40	4,01	9,98	0,27	
Tôm	0,42	Không	14	28	104,8	0,44	0,03	0,03	6,48	7,81	0,15
	0,90	Không	14	28	106,7	0,96	0,04	0,06	3,83	6,11	0,13
	1,75	Không	14	28	102,3	1,79	0,08	0,12	4,36	6,52	0,16
	1,18	Không	14	28	98,3	1,16	0,04	0,06	3,39	5,40	0,12



Bảng A.1 (kết thúc)

Nền mẫu	Chất phân tích được bổ sung, µg/kg	Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ thống kê <sup>a</sup>	Số lượng phòng thử nghiệm	Số lần lặp lại <sup>b</sup>	Độ đúng (độ thu hồi, %)	Nồng độ trung bình, µg/kg	Độ lệch chuẩn lặp lại $s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập $s_R$	Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại RSD <sub>r</sub> , %	Độ lệch chuẩn tương đối tái lập RSD <sub>R</sub> , %	Giá trị HorRat
BG											
Cá hồi	0,42	10c,2d	12	24	104,8	0,44	0,04	0,08	8,02	19,07	0,37
	0,90	Không	14	28	101,1	0,91	0,07	0,15	7,55	16,96	0,37
	1,75	Không	14	28	96,0	1,68	0,09	0,22	5,31	12,98	0,31
	Mẫu đã nhiễm	Không	14	28		1,48	0,12	0,31	8,21	20,75	0,49
Cá da trơn	0,42	12c,11e	12	24	104,8	0,44	0,02	0,09	5,17	21,51	0,42
	0,90	Không	14	28	101,1	0,91	0,05	0,36	5,90	39,36	0,86
	1,75	Không	14	27	97,7	1,71	0,14	0,59	8,23	34,46	0,83
	Mẫu đã nhiễm	2e	13	26		1,07	0,05	0,25	4,98	23,66	0,53
Tôm	0,42	Không	13	26	107,1	0,45	0,04	0,14	9,57	30,92	0,61
	0,90	Không	13	26	107,8	0,97	0,10	0,28	10,13	28,90	0,64
	1,75	Không	13	26	99,4	1,74	0,18	0,70	10,57	40,48	0,97
	1,5	Không	13	26	102,7	1,54	0,07	0,42	4,31	27,57	0,65

<sup>a</sup> Số lượng phòng thử nghiệm được chọn ngẫu nhiên.

<sup>b</sup> Số lượng lặp lại sau khi loại trừ dữ liệu không hợp lệ và ngoại lệ.

<sup>c</sup> Dữ liệu ngoại lệ bởi phép thử Cochran.

<sup>d</sup> Dữ liệu ngoại lệ bởi phép thử Grubbs 1.

<sup>e</sup> Dữ liệu ngoại lệ bởi phép thử Grubbs 2.