

Lời nói đầu

TCVN 5141:2008 thay thế TCVN 5141:1990;

TCVN 5141:2008 hoàn toàn tương đương với CAC/GL 40, Rev.1-2003;

TCVN 5141:2008 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F 13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lời giới thiệu

Tiêu chuẩn này nhằm giúp cho việc bảo đảm độ tin cậy của các kết quả phân tích khi kiểm tra tuân thủ giới hạn dư lượng tối đa cho phép trong thực phẩm lưu thông trong thương mại quốc tế. Các kết quả phân tích đáng tin cậy có tầm quan trọng trong việc bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng và thúc đẩy thương mại quốc tế.

Ngoài tiêu chuẩn này, còn có các khuyến cáo có liên quan khác của Codex do Ban Kỹ thuật Codex quốc tế về dư lượng thuốc bảo vệ thực vật (CCPR) xây dựng, liên quan đến tính hiệu lực của các giới hạn tối đa của Codex đối với thuốc bảo vệ thực vật (BVTV) như sau:

- 1 Phương pháp lấy mẫu để xác định dư lượng thuốc BVTV (CAC/GL 33-1999, Tập 2A, Phần 1, Xuất bản lần 2, Rome, 2000).
- 2 Phần các sản phẩm áp dụng Giới hạn tối đa dư lượng thuốc BVTV của Codex và đã được phân tích (CAC/GL 33-1999, Tập 2 A, Phần 1, Xuất bản lần 2, Rome, 2000).
- 3 Danh mục Giới hạn tối đa dư lượng thuốc BVTV (Codex Alimentarius, Tập 2, Dư lượng thuốc BVTV trong thực phẩm, Rome, 1993)
- 4 Phương pháp phân tích dư lượng thuốc BVTV (CAC/GL 33-1999, Tập 2A, Phần 1, Xuất bản lần 2, Rome, 2000).
- 5 Phân loại của Codex đối với thực phẩm và thức ăn chăn nuôi (Codex Alimentarius, Tập 2, Dư lượng thuốc BVTV trong thực phẩm, Rome, 1993).

Hướng dẫn thực hành phòng thử nghiệm tốt khi phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật

Guidelines on good laboratory practice in residue analysis

1 Giới thiệu

Trong nhiều vấn đề khác, người ta cho rằng mục tiêu cuối cùng về công bằng trong thương mại quốc tế phụ thuộc vào độ tin cậy của các kết quả phân tích. Đặc biệt là khi phân tích dư lượng thuốc BVTV, nó không chỉ phụ thuộc sự sẵn có các phương pháp phân tích đáng tin cậy mà còn phải dựa vào kinh nghiệm của cán bộ phân tích và tùy thuộc vào việc duy trì được "thực hành tốt trong phân tích thuốc BVTV".

Tiêu chuẩn này xác định thực hành phân tích tốt và có thể được xem xét ở ba phần có liên quan:

Cán bộ phân tích (Phần 2);

Các nguồn cơ bản (Phần 3);

Phương pháp phân tích (Phần 4);

Các yêu cầu về trang thiết bị, quản lý, nhân sự, đảm bảo chất lượng và kiểm soát chất lượng, các báo cáo kết quả và các số liệu thô cũng như các vấn đề khác có liên quan được coi là điều kiện tiên quyết để thu được các kết quả đáng tin cậy và có khả năng truy nguyên, được mô tả chung trong TCVN/ISO/IEC 17025:2001 và trong hàng loạt tài liệu Hướng dẫn OECD GLP, tương ứng với pháp luật và các qui định quốc gia hiện hành. Hướng dẫn này chưa phải là hoàn toàn để cập được hết mọi khía cạnh, nhưng cũng đưa ra được hầu hết các nguyên tắc và quy phạm thực hành quan trọng nhất phải tuân thủ khi phân tích dư lượng thuốc BVTV.

2 Cán bộ phân tích

2.1 Phân tích dư lượng bao gồm một chuỗi các qui trình mà bất cứ nhà hóa học nào được đào tạo đều đã biết hoặc khi đọc phải hiểu được, nhưng do nồng độ các chất phân tích chỉ ở phạm vi từ $\mu\text{g}/\text{kg}$ đến mg/kg và do phép phân tích vẫn còn là công việc có nhiều khó khăn nên cần đặc biệt chú ý đến từng chi tiết. Cán bộ phân tích đảm nhiệm công việc phải có trình độ tay nghề phù hợp và phải có kinh nghiệm và thành thạo khi phân tích dư lượng. Các nhân viên phải được đào tạo đầy đủ và có kinh nghiệm để sử dụng chính xác các thiết bị và thực hiện thành thạo các kỹ năng trong phòng thử nghiệm. Ngoài ra, mỗi cán bộ lần đầu tiên sử dụng phương pháp đều phải thực hiện đầy đủ các phép thử theo qui định tại 4.4.5 của Bảng 4 để chứng minh rằng họ có thể sử dụng phương pháp trong khuôn khổ các thông số thực hành mong muốn đã được đánh giá phê duyệt phương pháp trước khi phân tích mẫu. Họ phải nắm được nguyên tắc phân tích dư lượng thuốc BVTV và các yêu cầu của hệ thống Đảm bảo Chất lượng Phân tích (AQA). Họ phải hiểu được mục đích của từng giai đoạn của phương pháp, tầm quan trọng của việc tuân thủ một cách chính xác các phương pháp như đã mô tả và tầm quan trọng của việc thông báo các sai lệch không thể tránh khỏi. Họ cũng phải được đào tạo về đánh giá và giải thích các số liệu mà họ đưa ra. Phải lưu giữ mọi hồ sơ về đào tạo và kinh nghiệm của các nhân viên phòng thử nghiệm.

2.2 Khi thành lập phòng thử nghiệm phân tích dư lượng thuốc BVTV, các nhân viên phải qua một thời gian đào tạo và học hỏi kinh nghiệm ở các phòng thử nghiệm tốt. Nếu phòng thử nghiệm có liên quan đến phân tích phạm vi rộng dư lượng thuốc BVTV, thì có thể cần đến các nhân viên cần được tích lũy kinh nghiệm ở nhiều phòng thử nghiệm chuyên ngành.

3 Các nguồn cơ bản

3.1 Phòng thử nghiệm

3.1.1 Phòng thử nghiệm và các trang thiết bị phải được thiết kế cho phép thực hiện nhiệm vụ ở những khu vực đã xác định có khả năng đảm bảo an toàn tối đa và giảm thiểu sự nhiễm bẩn của các mẫu thử nghiệm. Phòng thử nghiệm phải được xây dựng, sử dụng và các vật liệu chịu được các loại hóa chất được sử dụng với chúng. Trong điều kiện lý tưởng, cần thiết kế các phòng riêng cho việc tiếp nhận và bảo quản mẫu, chuẩn bị mẫu, chiết mẫu và làm sạch, thiết bị sử dụng trong các bước xác định. Khu vực sử dụng để chiết và làm sạch phải đáp ứng các quy định của phòng thử nghiệm về dung môi và các thiết bị hút mùi phải có chất lượng cao. Tiếp nhận, bảo quản và chuẩn bị mẫu phải được thực hiện trong các khu vực dành riêng cho công việc về các mức dư lượng. Việc duy trì độ nguyên vẹn của mẫu và các quy định đầy đủ về an toàn cá nhân là các yêu cầu ưu tiên.

3.1.2 Vấn đề an toàn phòng thử nghiệm cũng phải được xem xét cái gì là cần thiết và cái gì là ưu tiên, vì phải thừa nhận rằng việc bắt buộc tuân thủ các điều kiện làm việc chặt chẽ trong các phòng thử nghiệm về dư lượng ở một vài nơi nào đó trên thế giới có thể là điều rất khó khăn đối với các phòng thử nghiệm. Không được hút thuốc, ăn uống hoặc trang điểm trong khu vực làm việc. Chỉ được giữ một lượng nhỏ dung môi tại khu vực làm việc và dung môi có dung tích lớn phải được bảo quản riêng, cách xa khu vực làm việc chính. Cần hạn chế sử dụng các dung môi và thuốc thử có độc tính cao đến mức thấp nhất có thể. Các dung môi thải ra phải được cất giữ an toàn và phải được tiêu hủy bằng phương pháp an toàn và không ảnh hưởng đến môi trường, có xem xét đến các qui định cụ thể của quốc gia, nếu có.

3.1.3 Khu vực làm việc chính phải được thiết kế và trang bị để sử dụng phạm vi thích hợp các dung môi phân tích. Tất cả các thiết bị như đèn, máy ngậm và tủ lạnh phải "không bắt lửa" hoặc "chống nổ". Các công đoạn chiết, làm sạch và cô đặc phải được thực hiện trong khu vực thông gió tốt, thích hợp nhất là ở trong tủ hút.

3.1.4 Cần sử dụng các lưới an toàn khi dùng đồ vật bằng thủy tinh ở điều kiện chân không hoặc áp suất. Cần có nguồn cung cấp đầy đủ kính an toàn, găng tay và quần áo bảo hộ khác, các thiết bị tẩy rửa khẩn cấp và các bộ xử lý các chất bị tràn. Phải có thiết bị chữa cháy thích hợp. Các nhân viên phải nhận thức được rằng có rất nhiều thuốc BVTV có đặc điểm là độc tính mãn tính hoặc cấp tính, do vậy phải đặc biệt chú ý khi xử lý các hợp chất chuẩn đối chứng.

3.2 Thiết bị và nguồn cung cấp

3.2.1 Phòng thử nghiệm phải yêu cầu các nguồn cung cấp điện, nước đầy đủ và đáng tin cậy. Nhất thiết phải có các nguồn cung cấp thuốc thử, dung môi, khí, đồ dùng thủy tinh, nguyên liệu sắc ký... đầy đủ và có chất lượng phù hợp.

3.2.2 Thiết bị sắc ký, cân phân tích, máy quang phổ... phải được bảo dưỡng, thường xuyên được hiệu chuẩn và phải duy trì hồ sơ ghi chép các dịch vụ/sửa chữa cho mỗi một bộ phận trong thiết bị. Quá trình hiệu chuẩn là không thể thiếu cho các thiết bị thực hiện các phép đo. Đường hiệu chuẩn và so sánh với chất chuẩn có thể phải đầy đủ.

3.2.3 Việc hiệu chuẩn và tái hiệu chuẩn thường xuyên các thiết bị đo phải được tiến hành khi có thể có những thay đổi về giá trị danh định nhưng ảnh hưởng đáng kể đến độ không đảm bảo của phép đo. Cân phân tích và các pipet/dụng cụ phân chia tự động và thiết bị tương tự phải được hiệu chuẩn thường xuyên. Nhiệt độ hoạt động của các loại tủ đông sâu và tủ lạnh cần được theo dõi liên tục hoặc phải được kiểm tra đều đặn sau các khoảng thời gian qui định. Mọi hồ sơ ghi chép phải được lưu giữ và cập nhật.

3.2.4 Thiết bị sử dụng phải phù hợp với mục đích sử dụng.

3.2.5 Tất cả các phòng thử nghiệm đều yêu cầu các chất chuẩn đối chứng thuốc BVTV đã biết và có độ tinh khiết cao ở mức chấp nhận được. Chất chuẩn phân tích phải có sẵn đối với mọi hợp chất gốc mà phòng thử nghiệm đang theo dõi mẫu, cũng như các chất chuyển hoá được đưa vào MRL.

3.2.6 Tất cả các chất chuẩn phân tích, dung dịch gốc và thuốc thử phải được ghi nhãn đúng cách bao gồm cả ngày chuẩn bị, dấu hiệu nhận biết của người phân tích, dung môi đã sử dụng, điều kiện bảo quản đã áp dụng, và những hợp chất mà tính nguyên vẹn của chúng có thể bị ảnh hưởng bởi các quá trình phân huỷ phải được ghi nhãn ngày hết hạn sử dụng và được bảo quản trong những điều kiện thích hợp. Các chất chuẩn đối chứng phải được bảo quản trong điều kiện để giảm thiểu tốc độ suy giảm chất lượng, như nhiệt độ thấp, tránh ẩm và ánh sáng. Cần chú ý sao cho dung dịch chuẩn của thuốc BVTV không bị hư hỏng do ảnh hưởng của ánh sáng hoặc do nhiệt trong quá trình bảo quản hoặc bị đậm đặc lại do dung môi bay hơi.

4 Phân tích

Các phương pháp áp dụng để xác định dư lượng thuốc BVTV cần phải đáp ứng các tiêu chí đưa ra ở Bảng 3.

4.1 Tránh nhiễm bẩn

4.1.1 Một trong những vấn đề chính trong đó việc phân tích dư lượng thuốc BVTV khác biệt đáng kể so với phân tích vĩ mô là sự nhiễm bẩn và gây nhiễu khi phân tích. Lượng nhiễm bẩn ở dạng vết trong mẫu cuối với các giai đoạn xác định của phương pháp có thể làm tăng sai số chẳng hạn như cho kết quả âm tính hoặc dương tính sai hoặc làm mất độ nhạy do ngăn cản việc phát hiện các dư lượng. Sự nhiễm bẩn có thể tăng từ các nguyên liệu được sử dụng, hoặc có liên quan đến lấy mẫu, vận chuyển và bảo quản mẫu, và khi phân tích. Mọi dụng cụ thủy tinh, thuốc thử, dung môi hữu cơ và nước phải được kiểm tra về khả năng có các chất nhiễm bẩn gây nhiễu trước khi sử dụng, bằng cách phân tích thuốc thử trắng.

4.1.2 Các chất tẩy rửa, kem bảo vệ da, xà phòng chứa chất sát trùng, thuốc xịt côn trùng, nước hoa và mỹ phẩm có thể làm tăng nhiễu và đặc biệt là tăng đáng kể khi sử dụng detector bắt điện tử. Chưa có một giải pháp thực sự nào cho vấn đề này ngoài việc cấm các nhân viên sử dụng chúng trong phòng thử nghiệm.

4.1.3 Dầu bôi trơn, chất chống thấm, chất dẻo, cao su tự nhiên và cao su tổng hợp, găng tay bảo hộ, dầu từ các ống khí nén và các tạp chất khi sản xuất vòng đệm, giấy lọc và gỗ-bia cũng có thể làm tăng sự nhiễm bẩn.

4.1.4 Thuốc thử hoá học, chất hấp phụ và các dung môi phòng thử nghiệm nói chung có thể chứa chất hấp thụ hoặc hợp chất hấp phụ làm nhiễu phép phân tích. Có thể cần phải tinh chế các thuốc thử và

chất hấp phụ và nói chung cần sử dụng các dung môi đã chưng cất lại. Nước đã khử ion thường vẫn bị nghi ngờ; tốt nhất là dùng nước đã cất lại, mặc dù trong nhiều trường hợp nước máy hoặc nước giếng có thể vẫn đáp ứng yêu cầu.

4.1.5 Sự nhiễm bẩn các đồ dùng thủy tinh, các xyranh và cột sắc ký khí có thể tăng lên do tiếp xúc với mẫu hoặc chất chiết trước đó. Mọi đồ dùng thủy tinh phải được làm sạch bằng dung dịch tẩy rửa, tráng kỹ bằng nước cất (hoặc nước sạch) và sau đó tráng lại bằng dung môi được sử dụng. Dụng cụ thủy tinh sử dụng để phân tích dạng vết phải được bảo quản riêng và không được sử dụng cho bất cứ mục đích nào khác.

4.1.6 Các chất chuẩn đối chứng thuốc BVTV luôn phải được bảo quản ở nhiệt độ thích hợp trong phòng riêng biệt với phòng thử nghiệm dư lượng chính. Dung dịch chuẩn phân tích đậm đặc và chất chiết không được bảo quản trong cùng một khu vực bảo quản.

4.1.7 Thiết bị thử nghiệm có chứa polyvinylclorua (PVC) phải được coi là đồ dùng có thể bị nghi ngờ và, nếu cho thấy là nguồn nhiễm bẩn, nó không được phép sử dụng trong phòng thử nghiệm dư lượng. Các nguyên liệu khác có chứa chất dẻo cũng cần được xem xét tuy nhiên PTFE và cao su silicon thường có thể được chấp nhận và một số chất khác có thể được chấp nhận trong một số tình huống cụ thể. Các vật chứa mẫu có thể gây ra sự nhiễm bẩn và có thể cần sử dụng các chai thủy tinh nút mài đậy kín. Dụng cụ phân tích phải được để trong phòng riêng biệt. Tính chất và tầm quan trọng của việc nhiễm bẩn có thể khác nhau tùy theo kỹ thuật xác định và mức dư lượng thuốc BVTV sẽ được xác định. Ví dụ các vấn đề về nhiễm bẩn, mà quan trọng với phương pháp dựa vào sắc ký khí hoặc sắc ký lỏng hiệu năng cao, có thể ít đáng kể hơn nếu áp dụng phương pháp quang phổ, và ngược lại. Đối với các mức dư lượng cao, sự nhiễu do dung môi và các nguyên liệu khác có thể không đáng kể so với lượng dư lượng có mặt. Các vấn đề có thể khắc phục bằng cách sử dụng các detector thay thế. Nếu chất nhiễm bẩn không làm nhiễu phép xác định, có thể chấp nhận sự có mặt của nó.

4.1.8 Phân tích dư lượng và chất lượng phải có các phòng thử nghiệm riêng biệt thực hiện. Các mẫu và việc chuẩn bị mẫu phải được tiến hành độc lập với các thao tác về phòng thử nghiệm dư lượng để loại trừ sự nhiễm bẩn chéo.

4.2 Tiếp nhận và bảo quản mẫu

4.2.1 Mỗi mẫu nhận được đưa vào phòng thử nghiệm cần phải có đầy đủ các thông tin kèm theo về nguồn gốc mẫu, về phép phân tích theo yêu cầu và về các mối nguy tiềm ẩn liên quan đến việc xử lý mẫu đó.

4.2.2 Khi nhận mẫu, mẫu thử phải được đặt ngay mã nhận biết duy nhất và sẽ đi cùng với nó trong suốt các giai đoạn phân tích đến khi báo cáo kết quả. Mẫu phải tuân theo hệ thống thải bỏ thích hợp và phải lưu giữ mọi hồ sơ.

4.2.3 Xử lý mẫu và lấy mẫu tiếp theo cần được thực hiện theo quy trình đã được chứng minh để cung cấp một phần mẫu phân tích đại diện và để không gây ảnh hưởng đến nồng độ dư lượng có mặt.

4.2.4 Nếu không thể phân tích ngay mẫu nhưng mẫu phải được phân tích nhanh, cần bảo quản chúng ở nhiệt độ 1 °C đến 5 °C, tránh ánh sáng trực tiếp, và phân tích trong vòng một vài ngày. Tuy nhiên, mẫu nhận được ở dạng đông lạnh sâu phải được giữ ở nhiệt độ ≤ -16 °C cho tới khi phân tích. Trong một số trường hợp, có thể cần phải bảo quản mẫu trong khoảng thời gian dài hơn trước khi phân tích. Trong trường hợp này, nhiệt độ bảo quản phải ở khoảng -20 °C, tại đó sự phân huỷ bởi enzym của dư lượng thuốc BVTV thường rất chậm. Nếu cần thời gian bảo quản lâu, cần kiểm tra hiệu quả quá trình bảo quản bằng cách phân tích mẫu bổ sung cũng được bảo quản ở cùng điều kiện trong cùng một khoảng thời gian tương tự. Thông tin về sự ổn định trong bảo quản dư lượng thuốc BVTV có thể tìm trong các ấn phẩm hàng năm của FAO với tiêu đề: Dư lượng thuốc BVTV - Đánh giá do FAO/WHO JMPR chuẩn bị và các thông tin do các nhà sản xuất gửi đến để giúp cho việc đăng ký các chất BVTV của họ.

4.2.5 Khi mẫu được bảo quản đông lạnh, cần lấy phần mẫu thử để phân tích trước khi đông lạnh để giảm thiểu ảnh hưởng có thể có của sự phân tách nước thành tinh thể đá trong khi bảo quản. Phải thận trọng để bảo đảm toàn bộ phần mẫu thử sẽ được sử dụng trong phép phân tích.

4.2.6 Các vật chứa mẫu không được để rò rỉ. Vật chứa hoặc nắp đậy không gây thôi nhiễm vào nơi bảo quản.

4.3 Quy trình thao tác chuẩn (SOPs)

4.3.1 SOPs cần được sử dụng trong mọi thao tác. SOPs phải bao gồm các hướng dẫn làm việc đầy đủ về thực hiện cũng như các thông tin về khả năng áp dụng, các đặc tính mong đợi, kiểm soát chất lượng nội bộ (xác định giá trị của các đặc tính) và cách tính kết quả. Nó cũng cần phải bao gồm các thông tin về mối nguy xuất hiện từ phương pháp, từ các chất chuẩn hoặc từ thuốc thử.

4.3.2 Bất cứ sai lệch nào từ một SOP phải được ghi lại và phải được người có thẩm quyền phê duyệt.

4.4 Đánh giá phê duyệt của phương pháp⁶:

4.4.1 Hướng dẫn phải được đánh giá phê duyệt đối với các quy trình phân tích dành cho các mục đích khác nhau. Các nguyên tắc mô tả trong phần này được xem là thực tế và thích hợp để đánh giá phê duyệt của phương pháp phân tích dư lượng thuốc BVTV. Hướng dẫn không phải là bắt buộc. Người

⁶ Phần này được dựa vào khuyến cáo của AOAC/FAO/IAEA tại cuộc hội đàm tổ chức ở Miskolc, Hungary, năm 1999. Toàn bộ tài liệu có sẵn tại: WWW.iaea.org/trc và trong A. Fajgelj & A. Ambrus Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of Chemistry, 2000

phân tích phải quyết định mức độ đánh giá phê duyệt theo yêu cầu để chứng minh rằng phương pháp này là phù hợp cho mục đích sử dụng, và theo đó phải đưa ra được những dữ liệu cần thiết về đánh giá phê duyệt đó. Ví dụ như, yêu cầu kiểm tra tính phù hợp với MRLs hoặc cung cấp các số liệu để ước tính sự tiêu thụ có thể rất khác nhau.

4.4.2 Một phương pháp phân tích sẽ là một dãy các quy trình từ khi tiếp nhận mẫu đến khi có được kết quả cuối cùng. Đánh giá phê duyệt phương pháp là quá trình khẳng định rằng phương pháp này là phù hợp với mục đích sử dụng. Phương pháp này có thể được xây dựng tại chỗ, lấy từ tư liệu hay bằng cách khác có thể do bên thứ ba cung cấp. Khi đó có thể chấp nhận phương pháp đó hoặc sửa đổi để thích hợp với các yêu cầu và khả năng của phòng thử nghiệm và/ hoặc phù hợp với mục đích mà phương pháp đó được áp dụng. Điển hình, việc đánh giá phê duyệt của phương pháp phải tuân theo đầy đủ việc xây dựng phương pháp đó với giả định là các yêu cầu như hiệu chuẩn, tính phù hợp của hệ thống, tính ổn định của phép phân tích ... đã được xây dựng thỏa đáng. Khi đánh giá và sử dụng phương pháp phân tích, các thông số đo phải được thiết lập trong giới hạn đã được hiệu chuẩn của hệ thống phát hiện. Nhìn chung, quá trình đánh giá phê duyệt của phương pháp sẽ tiến hành thực nghiệm trước khi áp dụng phương pháp này để phân tích mẫu thử nhưng việc kiểm tra tính năng thực hiện tiếp theo là một khâu quan trọng tiếp nối của quá trình. Yêu cầu về dữ liệu kiểm tra tính năng thực hiện là một điều khoản trong những yêu cầu để đánh giá phê duyệt của phương pháp.

Kiểm tra độ thành thạo (hoặc quy trình kiểm tra liên phòng thử nghiệm khác), khi có thể, cung cấp một biện pháp quan trọng để khẳng định độ chính xác chung của các kết quả thu được khi thực hiện phương pháp đó, và cung cấp các thông tin về sự khác biệt các kết quả giữa các phòng thử nghiệm. Tuy nhiên, kiểm tra độ thành thạo nói chung không đưa ra được tính ổn định về phân tích hoặc sự đồng nhất và khả năng chiết của chất phân tích trong mẫu đã xử lý.

Khi yêu cầu các dữ liệu không đảm bảo, thông tin này phải bao gồm số liệu kiểm tra tính năng thực hiện và không chỉ dựa trên duy nhất các số liệu về đánh giá phê duyệt của phương pháp.

4.4.3 Bất cứ khi nào một phòng thử nghiệm tiến hành xây dựng phương pháp và/hoặc cải tiến phương pháp, cần xác định hiệu quả của sự thay đổi phân tích, ví dụ: bằng việc sử dụng các phép thử ổn định trước khi đánh giá phê duyệt của phương pháp. Cần thực hiện các biện pháp kiểm soát nghiêm ngặt liên quan đến mọi yếu tố của phương pháp có thể ảnh hưởng đến kết quả, chẳng hạn như kích cỡ mẫu thử, dung tích; các thay đổi đặc tính của hệ thống làm sạch; tính ổn định của thuốc thử hoặc của các chất dẫn xuất được chuẩn bị; ảnh hưởng của ánh sáng, nhiệt độ, dung môi và quá trình bảo quản chất phân tích khi chiết; ảnh hưởng của dung môi, ống tiêm, cột phân tách, đặc tính của pha động (thành phần và tốc độ của dòng chảy), nhiệt độ, hệ thống phát hiện, chất đồng tách chiết... trên hệ thống xác định. Điều quan trọng nhất là phải xây dựng một cách rõ ràng mối tương quan định tính và định lượng giữa dấu hiệu đo được và chất phân tích tìm thấy.

4.4.4 Cần ưu tiên cho các phương pháp có khả năng áp dụng đối với các đa dư lượng hoặc đa chất nền. Việc sử dụng chất phân tích đại diện hoặc chất nền là rất quan trọng khi đánh giá phê duyệt của phương pháp. Ví mục đích này, các sản phẩm phải được phân biệt đầy đủ nhưng không phải là không cần thiết. Ví dụ, có nhiều sản phẩm có sẵn trên thị trường với nhiều kiểu sản xuất khác nhau, hoặc các giống cây, con khác nhau. Nhìn chung, mặc dù không thay đổi, một biến thể đơn của một sản phẩm cụ thể có thể được xem là đại diện cho những biến thể khác của cùng một sản phẩm đó nhưng, ví dụ như, một loại rau hoặc quả đơn lẻ không thể lấy để đại diện cho tất cả các loại quả hoặc rau (Bảng 5). Cần xem xét từng trường hợp theo giá trị riêng của nó tuy nhiên khi có những biến thể cụ thể trong phạm vi một sản phẩm đã biết khác với những sản phẩm mà ảnh hưởng của chúng đến tính năng của phương pháp, thì cần phân tích các biến thể đó. Chênh lệch đáng kể về độ đúng và độ chụm của phương pháp, đặc biệt liên quan đến bước xác định, có thể xuất hiện từ loài này sang loài khác.

4.4.4.1 Kinh nghiệm cho thấy việc thực hiện tương tự quá trình chiết và làm sạch giữa các sản phẩm tương tự/chất nền mẫu nói chung, có thể chấp nhận một biện pháp đơn giản để đánh giá khả năng thực hiện. Một sản phẩm đại diện có thể được lựa chọn từ Bảng 5 để đại diện cho mỗi nhóm sản phẩm có cùng đặc tính, và được sử dụng để đánh giá phê duyệt của quy trình hoặc phương pháp đó ở Bảng 5, các sản phẩm được phân loại theo Phân loại của Codex¹.

Một số ví dụ về việc số liệu đánh giá phê duyệt có thể được áp dụng đối với những sản phẩm khác như:

- ngũ cốc, đánh giá phê duyệt ngũ cốc nguyên hạt không thể áp dụng cho cám hoặc bánh mỳ tuy nhiên đánh giá phê duyệt hạt lúa mỳ có thể áp dụng được cho hạt lúa mạch hoặc bột lúa mỳ;
- sản phẩm động vật, việc đánh giá phê duyệt đối với thịt không thể đem dùng để áp dụng cho chất béo hoặc đối với nội tạng nhưng đánh giá phê duyệt đối với chất béo thịt gà có thể áp dụng cho chất béo gia súc;
- Hoa quả và rau, đánh giá phê duyệt đối với sản phẩm tươi nguyên quả không thể dùng để áp dụng cho sản phẩm sấy khô nhưng đối với chúng, đối với bắp cải có thể áp dụng cho cải Brussels.

4.4.4.2 Tương tự như vậy, có thể sử dụng các chất phân tích đại diện để đánh giá tính năng của phương pháp. Các hợp chất có thể được lựa chọn gồm các đặc tính lý, hoá của chất phân tích để thực hiện phép xác định bằng phương pháp đó. Việc lựa chọn chất phân tích đại diện phải căn cứ vào mục đích và phạm vi áp dụng của phép phân tích liên quan đến những vấn đề sau:

(a) Các chất phân tích đại diện được lựa chọn phải:

- (i) có một phạm vi rộng đủ bao trùm các đặc tính hoá - lý của các chất được phân tích;

(ii) là những chất được phát hiện thường xuyên, hoặc căn cứ vào các kết quả phải đưa ra những quyết định quan trọng đối với chúng.

(b) Càng thực tế càng tốt, các chất phân tích đưa vào quá trình đánh giá phê duyệt ban đầu phải là những chất sẽ phải được kiểm tra thường xuyên và có thể được xác định đồng thời bằng hệ thống xác định được sử dụng.

(c) Nồng độ của các chất phân tích sử dụng để đặc trưng cho phương pháp cần được lựa chọn để bao gồm các giới hạn được chấp nhận (AL, xem phần chú giải thuật ngữ) của mọi chất phân tích dự định được tìm thấy trong các sản phẩm. Do đó các chất phân tích đại diện được lựa chọn phải gồm, trong số các chất khác có ALs cao và thấp. Kết quả là, các mức bổ sung sử dụng trong phép thử đặc tính đối với các sản phẩm đại diện/chất phân tích đại diện có thể không cần thiết phải tương ứng với ALs thực sự.

4.4.5 Khi có những dữ liệu thích hợp, người phân tích có thể không cần phải thực hiện mọi phép thử. Tuy nhiên, mọi thông tin yêu cầu phải được đưa vào hoặc để cập đến trong hồ sơ đánh giá. Bảng 1 đưa ra một tổng quan các thông số sẽ được đánh giá dành để đánh giá phê duyệt của phương pháp theo tình trạng phương pháp sẽ được xác nhận. Các thông số và tiêu chí cụ thể được đánh giá được liệt kê trong Bảng 2. Cẩn hạn chế thông số sẽ được đánh giá đến mức thích hợp đối với phương pháp và mục đích mà phương pháp đó được áp dụng. Trong nhiều trường hợp, các đặc tính thực hiện liên quan đến một số thông số có thể thu được khi sử dụng thực nghiệm riêng lẻ. Phép thử được xây dựng khi những yếu tố khác nhau thay đổi tại cùng một thời điểm (mục đích thực nghiệm thực tế), có thể giúp giảm thiểu các nguồn cần thiết. Tính năng thực hiện của phương pháp phân tích cần được kiểm tra, cả trong suốt quá trình xây dựng và trong quá trình sử dụng nó tiếp sau đó như đã chỉ ra trong 4.5, theo các tiêu chí cho trong ở Bảng 3.

4.4.6 Các phương pháp riêng lẻ (dư lượng đơn) cần được đánh giá đầy đủ với mọi chất phân tích và nguyên liệu mẫu theo mục đích, hoặc sử dụng chất nền mẫu đại diện cho chất sẽ được phân tích trong phòng thử nghiệm.

4.4.7 Các phương pháp nhóm đặc thù (GSM) cần được đánh giá bước đầu với một hoặc nhiều hơn các sản phẩm đại diện và tối thiểu hai chất phân tích đại diện được lựa chọn từ nhóm đó.

4.4.8 MRMs có thể được đánh giá phê duyệt với các sản phẩm đại diện và các chất phân tích đại diện.

4.5 Kiểm tra tính năng thực hiện

4.5.1 Mục đích chính của việc kiểm tra tính năng thực hiện là:

- Theo dõi việc thực hiện phương pháp dưới các điều kiện thực khi sử dụng phương pháp đó;

- Cần lưu ý đến ảnh hưởng của những thay đổi không thể tránh khỏi gây ra bởi, ví dụ như, thành phần mẫu, đặc tính của các dụng cụ, chất lượng của hoá chất, thay đổi việc thực hiện của cán bộ phân tích và các điều kiện môi trường của phòng thử nghiệm;
- Chứng tỏ rằng đặc tính thực hiện của phương pháp nhìn chung tương tự với những đặc tính được xây dựng khi đánh giá phê duyệt của phương pháp, cho thấy phương pháp này đang trong sự "kiểm soát thống kê", và độ chính xác và độ không đảm bảo của các kết quả có thể so sánh được với độ chính xác và độ không đảm bảo mong đợi của phương pháp đó. Vì mục đích này, các số liệu thu được khi đánh giá phê duyệt của phương pháp có thể được cập nhật theo các dữ liệu thu được từ việc kiểm tra tính năng thực hiện trong quá trình sử dụng phương pháp thường xuyên.

Kết quả việc kiểm tra chất lượng nội bộ cung cấp các thông tin cần thiết về độ tái lập dài hạn và các đặc điểm thực hiện khác của phương pháp bao gồm chất phân tích và sản phẩm được phối hợp trong quá trình mở rộng phương pháp đó.

Các đặc tính thực hiện chính sẽ được kiểm tra và quy trình thử thích hợp được mô tả trong Bảng 2.

Để đánh giá phê duyệt có hiệu quả, phân tích mẫu đồng thời với phép phân tích kiểm soát chất lượng thích hợp (phép xác định trắng và xác định độ thu hồi, các nguyên liệu đối chứng...). Biểu đồ kiểm soát có thể được sử dụng để kiểm tra chiều hướng thực hiện của phương pháp và để bảo đảm duy trì được biện pháp kiểm tra thống kê.

4.5.2 Xây dựng và sử dụng biểu đồ kiểm soát

4.5.2.1 Biểu đồ kiểm soát có thể là một công cụ có tác dụng để chứng minh khả năng thực hiện của phương pháp và độ tái lập của thông số lựa chọn của nó. Một ví dụ là biểu đồ kiểm soát độ thu hồi. Việc áp dụng nó tùy thuộc vào nhiệm vụ của phòng thử nghiệm. Khi có số lượng lớn của cùng một loại mẫu được phân tích cho các thành phần có cùng hoạt tính thì biểu đồ kiểm soát căn cứ vào độ thu hồi trung bình và sai lệch chuẩn của nó thu được trong quá trình sử dụng phương pháp thường xuyên. Khi có một lượng nhỏ từng loại lớn các mẫu được phân tích cho một lượng lớn chất phân tích bằng các quy trình đã dư lượng thì biểu đồ kiểm soát không thể được áp dụng theo cách như vậy. Trong những trường hợp này, trước tiên xây dựng biểu đồ kiểm soát theo độ thu hồi trung bình (Q) của các chất phân tích đại diện trong chất nền đại diện và điển hình là hệ số biến thiên (CV_{MYP}) độ tái lập phòng thử nghiệm, thu được như mô tả dưới đây. Khi số liệu độ thu hồi trung bình và hệ số biến thiên của chúng thu được trong khi đánh giá phê duyệt của phương pháp đối với chất phân tích/chất nền mẫu đơn lẻ sẽ không khác biệt về thống kê, mỗi cái có thể được xem là sự ước tính độ thu hồi và độ chụm thực tế của phương pháp, và với sự kết hợp thích hợp của chúng, độ thu hồi điển hình (Q_{MYP}) và hệ số biến thiên (CV_{MYP}) của phương

pháp có thể được thiết lập và sử dụng để xây dựng biểu đồ kiểm soát ban đầu. Giới hạn cảnh báo và giới hạn tác dụng lần lượt là $Q_{typ} \pm 2 * CV_{Atyp} * Q$ và $Q_{typ} \pm 3 * CV_{Atyp} * Q$.

4.5.2.2 Khi phương pháp này được áp dụng để phân tích thường xuyên các chất phân tích đa dạng/phức chất nền đại diện trong khi đánh giá phê duyệt của phương pháp, độ thu hồi đơn lẻ được đánh dấu trên biểu đồ. Độ tái lập của phương pháp khi sử dụng nó bình thường đôi khi có thể cao hơn độ tái lập thu được khi đánh giá phê duyệt của phương pháp đó. Do vậy, nếu có một vài độ thu hồi nằm ngoài giới hạn cảnh báo hoặc thỉnh thoảng nằm ngoài giới hạn tác động, nhưng chúng lại vẫn nằm trong phạm vi đã được tính từ các giá trị CV_A quy định ở Bảng 3, sẽ không cần thiết phải có một tác động đặc biệt nào nữa.

4.5.2.3 Căn cứ vào 15 đến 20 phép thử thu hồi bổ sung được tiến hành khi sử dụng thường xuyên phương pháp này, như là một phần trong việc kiểm tra tính năng thực hiện, độ thu hồi trung bình hoặc độ thu hồi điển hình và CV_A phải được tính lại và một biểu đồ kiểm soát mới được xây dựng phản ánh được độ tái lập thời hạn dài khi áp dụng phương pháp đó. Các thông số mới được thiết lập phải nằm trong phạm vi chấp nhận được quy định ở Bảng 3.

4.5.2.4 Nếu không thể đạt được, ví dụ như trong trường hợp chất phân tích có tính đặc thù, các kết quả từ mẫu phải được báo cáo là độ chính xác hoặc độ chụm thấp hơn so với xác định dư lượng thuốc BVTV thông thường.

4.5.2.5 Khi sử dụng phương pháp này thường xuyên, nếu giá trị trung bình đầu tiên ≥ 10 phép thử thu hồi đối với chất phân tích đặc thù/chất nền mẫu sai khác đáng kể ($P = 0,05$) so với độ thu hồi trung bình thu được đối với chất phân tích đại diện/chất nền mẫu, thì Q_{typ} và CV_{typ} là không thể áp dụng được. Tính toán giới hạn cảnh báo và giới hạn tác động mới cho chất phân tích đặc thù/chất nền mẫu, áp dụng độ thu hồi trung bình mới và giá trị CV đo được.

4.5.2.6 Nếu dữ liệu kiểm tra xác nhận các đặc tính nằm ngoài giới hạn cảnh báo (1 trong 20 thông số đo nằm ngoài giới hạn có thể chấp nhận được), cần kiểm tra các điều kiện áp dụng của phương pháp, nguồn sai số cần được nhận biết, và các hành động khắc phục cần thiết trước khi sử dụng phương pháp.

4.5.2.7 Nếu dữ liệu kiểm tra tính thực hiện nằm ngoài giới hạn tác động xác định theo các phần từ 4.5.2.1 đến 4.5.2.3, mẻ phân tích liên quan (hoặc ít nhất các mẫu mà trong đó dư lượng được tìm thấy $\geq 0,7 AL$ hoặc $0,5 AL$ tương ứng, đối với chất phân tích được phát hiện thường xuyên hoặc thỉnh thoảng) cần được lập lại.

4.5.2.8 Phân tích lại phần chất phân tích của mẫu dương tính là một viện pháp có hiệu lực khác của việc kiểm tra tính thực hiện. Kết quả của chúng có thể được sử dụng để tính toán độ tái lập tổng thể trong phòng thử nghiệm của phương pháp (CV_{Ltyp}) nói chung hoặc đối với một chất phân tích đặc

thù/chất nền mẫu. Trong trường hợp đó, CV_{Lyp} sẽ bao gồm độ không bảo đảm của quá trình chế biến mẫu, nhưng sẽ không chỉ ra được nếu chất phân tích bị hao hụt trong quá trình đó.

4.6 Phép thử khẳng định

4.6.1 Khi phép phân tích được thực hiện nhằm mục đích theo dõi hoặc để thực hiện, nó đặc biệt quan trọng ở chỗ các dữ liệu khẳng định thu được trước khi báo cáo về mẫu có chứa dư lượng thuốc BVTV mà không thường đi kèm với sản phẩm, hoặc khi MRLs xem ra đã vượt quá mức. Các mẫu có thể có chứa các hoá chất gây nhiễu mà có thể bị xác nhận sai là thuốc BVTV. Các ví dụ trong phép sắc ký khí gồm các đáp ứng của detector bắt giữ điện tử với các este phtalat và của detector chọn lọc phospho đối với các hợp chất có chứa sulphua và nitơ. Vì là bước đầu tiên, nên cần lặp lại phép phân tích sử dụng cùng phương pháp, nếu chỉ có một phần mẫu thực được phân tích. Nó sẽ tạo ra bằng chứng về độ lặp lại của kết quả, nếu dư lượng được khẳng định. Cần lưu ý rằng chỉ tạo ra được bằng chứng hỗ trợ cho sự không có mặt của dư lượng có thể phát hiện được bởi số liệu kiểm tra tính năng thực hiện.

4.6.2 Phép thử khẳng định có thể là định tính và/hoặc định lượng nhưng, trong hầu hết các trường hợp, vẫn cần phải có cả hai loại thông tin này. Các vấn đề cụ thể xuất hiện khi dư lượng cần được khẳng định tại giới hạn xác định, mặc dù rất khó xác định số lượng dư lượng tại mức này, nhưng nhất thiết phải khẳng định đầy đủ về cả mức và sự nhận biết.

4.6.3 Nhu cầu cần có các phép thử khẳng định có thể tùy thuộc vào loại mẫu hoặc lịch sử đã biết của nó. Trong một số nông sản hoặc nhóm sản phẩm, thường tìm thấy các dư lượng nào đó. Với một dãy các mẫu có nguồn gốc tương tự, mà có chứa các dư lượng của cùng một loại thuốc BVTV, nó có thể đủ để khẳng định loại dư lượng với một phần nhỏ mẫu được chọn ngẫu nhiên. Tương tự như vậy, khi đã biết một loại thuốc BVTV cụ thể được dùng cho mẫu thì có thể là không cần phải khẳng định loại dư lượng, mặc dù các kết quả lựa chọn ngẫu nhiên vẫn phải được khẳng định. Khi có sẵn mẫu "trắng", những mẫu này phải được sử dụng để kiểm tra sự xuất hiện của các chất gây nhiễu có thể có.

4.6.4 Tùy thuộc vào kỹ thuật xác định ban đầu, một quy trình thay thế có thể là một kỹ thuật phát hiện khác, có thể cần thiết để định lượng. Đối với việc khẳng định về định tính (nhận biết) thì việc sử dụng số liệu khối phổ, hoặc kết hợp các kỹ thuật dựa trên các đặc tính hoá - lý khác nhau, là cần thiết (xem Bảng 6).

4.6.5 Các bước cần thiết để xác nhận dương tính là một vấn đề cần được điều chỉnh theo người phân tích và phải đặc biệt chú ý đến việc chọn phương pháp để giảm thiểu những ảnh hưởng của các hợp chất gây nhiễu. Kỹ thuật được chọn tùy thuộc vào các dụng cụ thích hợp có sẵn và kỹ năng trong phòng thử nghiệm. Một số quy trình thay thế để khẳng định được đưa ra ở Bảng 6.

4.7 Phổ khối

4.7.1 Số liệu về dư lượng thu được khi sử dụng phổ khối có thể đại diện cho hầu hết các bằng chứng xác định và khi có các thiết bị thích hợp, thì nó chính là kỹ thuật khẳng định được lựa chọn. Kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng cho mục đích sàng lọc dư lượng. Phép xác định các dư lượng bằng phổ khối thường được tiến hành cùng với kỹ thuật phân tách sắc ký để có được một thời gian lưu, tỷ số khối lượng ion/điện tích và đồng thời cả số liệu về sự nhiễu ion. Kỹ thuật phân tách cụ thể, máy đo phổ khối, sự giao diện giữa chúng và phạm vi các thuốc BVTV sẽ được phân tích thường phụ thuộc lẫn nhau và không có sự kết hợp đơn lẻ nào là thích hợp để phân tích tất cả các hợp chất. Việc chuyển định lượng các chất phân tích không bền qua hệ thống sắc ký và mặt phân cách thường tạo ra các vấn đề tương tự với những detector khác. Sự khẳng định chắc chắn nhất sự có mặt của một dư lượng là sự thu được toàn bộ phổ khối ion hoá tác động lên electron (trong thực tế nói chung là từ m/z 50 đến vượt qua vùng ion phân tử). Sự xuất hiện nhiễu ion liên quan trong phổ và việc không có mặt các ion gây nhiễu là những đánh giá quan trọng khi khẳng định loại dư lượng. Kiểu phân tích này là một trong những cách ít lựa chọn nhất và cần phải tuyệt đối tránh sự nhiễu từ các chất nhiễm bẩn tạo ra trong khi chuẩn bị hoặc bảo quản chất chiết. Hệ thống dữ liệu máy đo phổ khối cho phép các dấu hiệu gây nhiễu ẩn (như cột khuếch tán), được loại bỏ bằng "chiết xuất nền" nhưng kỹ thuật này phải thận trọng khi sử dụng. Thường có thể tăng được độ nhạy bằng các biện pháp quét giới hạn khối lượng chế hoặc bằng việc theo dõi các ion đã chọn, số lượng các ion được theo dõi càng nhỏ (đặc biệt nếu chúng có khối lượng thấp), thì số liệu tạo ra càng ít chính xác. Phép khẳng định bổ sung về định tính có thể thu được (i) bằng việc sử dụng cột sắc ký thay thế; (ii) bằng việc sử dụng kỹ thuật ion hoá thay thế (như ion hoá hóa học); (iii) bằng việc theo dõi các sản phẩm phản ứng tiếp theo của các ion đã chọn bằng quang phổ khối kép (MS/MS hoặc MSⁿ); hoặc bằng cách theo dõi các ion đã chọn ở độ phân giải khối đã tăng. Khi định lượng, các ion đã được theo dõi cần phải là những ion đặc thù nhất đối với chất phân tích, phải là chất ít gây nhiễu nhất và tạo ra được tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu tốt. Phép xác định quang phổ khối cần đáp ứng các tiêu chí kiểm soát chất lượng phân tích tương tự đối với các tiêu chí đã áp dụng cho các hệ thống khác.

4.7.2 Khẳng định dư lượng được phát hiện tiếp theo việc phân tách bằng HPLC nhìn chung sẽ khó hơn so với khi sử dụng sắc ký khí. Nếu quá trình phát hiện là bằng sự hấp thụ UV, việc tạo ra phổ toàn diện có thể đưa ra bằng chứng tốt về loại dư lượng. Tuy nhiên, phổ UV của một vài loại thuốc BVTV thường khó phát hiện được, sẽ tương tự như các phổ tạo ra bởi nhiều hợp chất khác có các nhóm chức năng hoặc cấu trúc tương tự, và việc cùng hoà tan các hợp chất gây nhiễu có thể gây ra những vấn đề phụ khác. Số liệu về sự hấp thụ UV tạo ra ở các bước sóng hỗn hợp có thể hỗ trợ hoặc bác bỏ việc xác nhận, tuy nhiên nhìn chung, chúng chưa tự có các đặc trưng đầy đủ. Số liệu về huỳnh quang có thể được sử dụng để hỗ trợ cho những dữ liệu thu được bằng việc hấp thụ UV. LC-MS có thể cung cấp các bằng chứng hỗ trợ tốt tuy nhiên, do phổ tạo ra nhìn chung rất đơn giản và cho thấy ít các giải đặc tính, nên các kết quả tạo ra từ LC-MS gần như chưa được xác định. LC-MS/MS là một kỹ thuật có nhiều hiệu quả hơn, kết hợp tính chọn lọc với tính đặc thù, và thường cho các bằng chứng tốt về tính đồng nhất. Kỹ thuật LC-MS nhằm tới hiệu ứng của chất nền, đặc biệt là sự ức chế, và do đó việc khẳng định định

lượng có thể cần phải sử dụng thêm chất chuẩn hoặc sử dụng chất chuẩn đồng vị được đánh dấu. Có thể sử dụng dẫn xuất để khẳng định các dư lượng được phát hiện bằng HPLC (đoạn 4.6.5.4).

4.7.3 Trong một số trường hợp, việc khẳng định các kết quả sắc ký khí hầu như đạt được dễ dàng bằng TLC. Phép xác nhận căn cứ vào hai tiêu chí, giá trị R_f và phản ứng hình ảnh. Phương pháp phát hiện dựa trên các phản ứng sinh học (như enzym -, ức chế hạt diệp lục hoặc ức chế nấm) đặc biệt thích hợp với phép khẳng định định tính vì chúng là đặc thù đối với loại hợp chất nhất định, độ nhạy và thường rất ít bị ảnh hưởng bởi các chất đồng chiết. Có nhiều tài liệu khoa học tham khảo đối với kỹ thuật này, Báo cáo của IUPAC về thuốc BVTV (13) (Báotara, V., Victorovic, S.Y., Thier, H.-P. và Klisenco, M.A.; Pure & Appl.Chem., 53, 1039-1049 (1981)) được sử dụng như là một hướng dẫn thuận tiện. Tuy nhiên, việc phân tích định tính bằng sắc ký lớp mỏng bị hạn chế. Sự mở rộng tiếp nữa của kỹ thuật này liên quan đến việc loại bỏ các vùng trên đĩa tương ứng với R_f của chất có liên quan bằng việc rửa giải từ nguyên liệu lớp trên và phép phân tích khẳng định về hoá học và vật lý tiếp theo. Một dung dịch thuốc BVTV chuẩn cần được chấm thường xuyên lên đĩa dọc theo chất chiết mẫu để loại bỏ bất kỳ vấn đề nào về độ không lặp lại của R_f . Việc chấm nhiều các chất chiết bằng thuốc BVTV chuẩn có thể cho các kết quả có lợi. Lợi ích của phép đo sắc ký lớp mỏng là tiến hành rất nhanh, chi phí thấp và có khả năng áp dụng được cho các nguyên liệu nhạy cảm với nhiệt; các hạn chế của nó bao gồm (thông thường) độ nhạy thấp hơn và lực phân tách thấp hơn so với kỹ thuật phát hiện bằng sắc ký dụng cụ và cần có mức độ làm sạch hiệu quả hơn trong trường hợp phát hiện dựa trên phản ứng màu của hoá chất.

4.8 Dẫn xuất

Lĩnh vực khẳng định này có thể được xem xét theo 3 tiêu đề lớn sau:

(a) Các phản ứng hoá học

Các phản ứng hoá học ở phạm vi nhỏ dẫn đến các sản phẩm thuốc BVTV phân huỷ, bổ sung hoặc ngưng tụ, sau đó là việc kiểm tra lại sản phẩm bằng kỹ thuật sắc ký, phải được sử dụng thường xuyên. Các phản ứng tạo ra các sản phẩm có những thời gian lưu khác nhau và/hoặc độ nhạy của detector với những phản ứng của các hợp chất gốc. Một mẫu thuốc BVTV chuẩn cần được xử lý cùng với nghi ngờ dư lượng sao cho các kết quả của mỗi mẫu có thể được so sánh trực tiếp. Một chất chiết bổ sung cần được đưa vào để chứng minh rằng phản ứng này đã được tiến hành khi có mặt nguyên liệu mẫu. Độ nhiễu có thể xuất hiện khi các chất dẫn xuất được phát hiện bằng các đặc điểm của thuốc thử dẫn xuất. Một đánh giá tổng quan các phản ứng hoá học được sử dụng cho mục đích khẳng định đã được Cochrane, W.P công bố. (Dẫn xuất hoá học trong phân tích thuốc BVTV, ấn bản Plenum, NY (1981)). Các phản ứng hoá học có những lợi ích là tiến hành nhanh và dễ thực hiện, tuy nhiên thuốc thử chuyên ngành có thể cần phải được mua và /hoặc tinh chế.

(b) Phản ứng lý học

Một kỹ thuật tiện dụng là sự thay đổi quang hoá dư lượng thuốc BVTV để tạo ra một hoặc nhiều sản phẩm hơn với một kiểu sắc ký có thể tái lập. Một mẫu thuốc BVTV chuẩn và chất chiết bổ sung cần được xử lý theo cùng một cách như nhau. Các mẫu có chứa nhiều hơn một loại dư lượng thuốc BVTV có thể gây ra những khó khăn khi diễn giải kết quả. Trong những trường hợp đó, có thể tiến hành phân tách trước các dư lượng cụ thể bằng việc sử dụng LTC, HPLC hoặc phân đoạn cột trước khi phản ứng.

(c) Các phương pháp khác

Nhiều loại thuốc BVTV có thể dễ phân huỷ/biến đổi bởi enzyme. Ngược với các phản ứng hoá học thông thường, những quá trình này rất đặc thù và nhìn chung bao gồm quá trình ô xi hoá, thủy phân hoặc loại kiềm. Các sản phẩm chuyển đổi có những đặc tính sắc ký khác với loại thuốc BVTV gốc và có thể được sử dụng cho mục đích khẳng định nếu so với các sản phẩm phản ứng sử dụng các loại thuốc BVTV chuẩn.

4.9 Khái niệm mức hiệu chuẩn thấp nhất (LCL)

4.9.1 Khi mục đích của phép phân tích là theo dõi và kiểm tra tính phù hợp với MRLs hoặc các ALs khác, phương pháp xác định dư lượng phải đủ nhạy để xác định một cách tin cậy các dư lượng mà chắc chắn sẽ có mặt trong cây trồng sản phẩm hoặc mẫu môi trường ở mức hoặc gần với mức MRL hoặc AL. Tuy nhiên, với mục đích này sẽ là không cần thiết sử dụng phương pháp có độ nhạy đủ để xác định các dư lượng ở mức thấp hơn hai hoặc nhiều lần. Các phương pháp được xây dựng để đo các dư lượng ở mức rất thấp thường rất đắt và khó áp dụng. Việc sử dụng LCL (Xem Bảng thuật ngữ) có những tiện lợi về giảm khó khăn về kỹ thuật để thu được các số liệu và đồng thời cũng giảm chi phí thực hiện. Các đề nghị dưới đây đối với LCL trong các mẫu khác nhau có thể có ích để cho phép chuyên gia hoá chất về dư lượng xây dựng được các phương pháp thích hợp.

4.9.2 Các thành phần hoạt tính với MRLs thoả thuận, LCL có thể được quy định cụ thể như một phân số của MRL. Để thuận tiện về mặt phân tích, phân đoạn này sẽ khác nhau và có thể như sau:

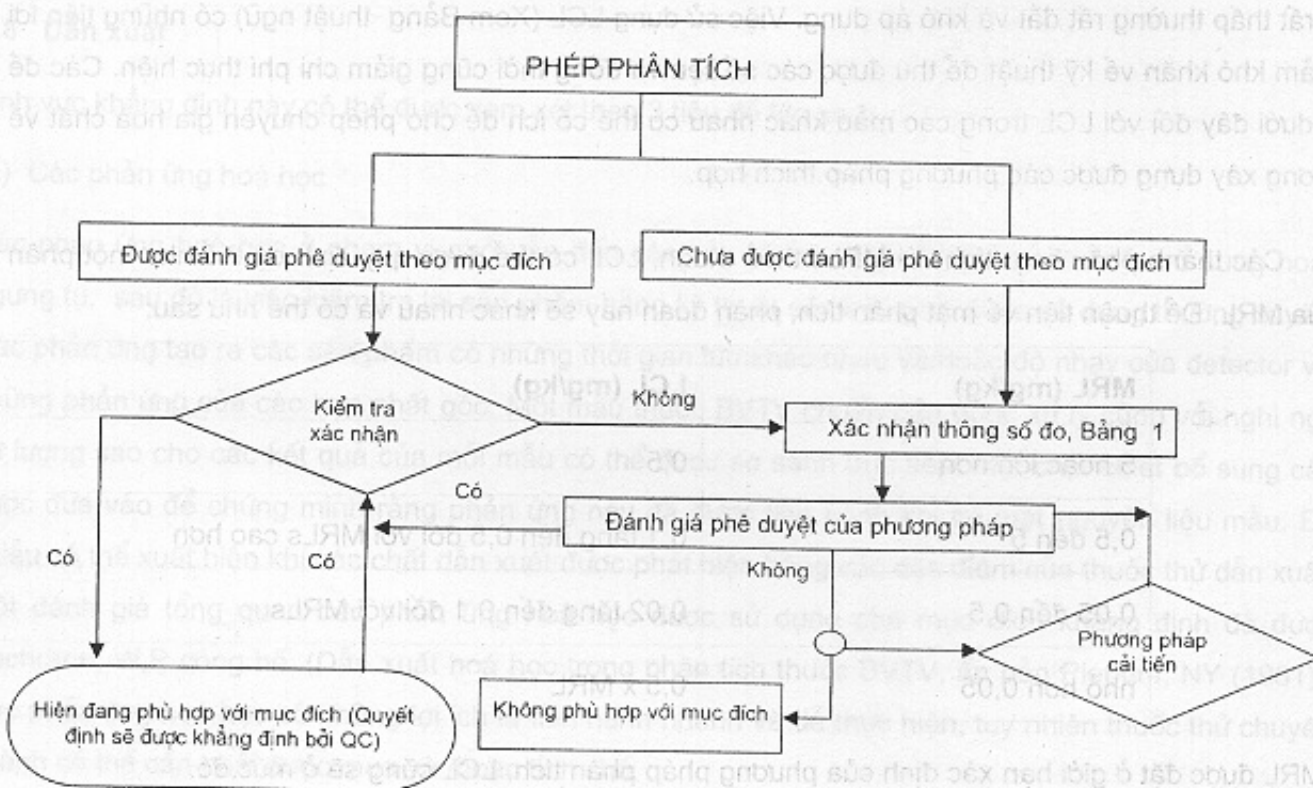
| MRL (mg/kg) | LCL (mg/kg) |
|----------------|---------------------------------------|
| 5 hoặc lớn hơn | 0,5 |
| 0,5 đến 5 | 0,1 tăng đến 0,5 đối với MRLs cao hơn |
| 0,05 đến 0,5 | 0,02 tăng đến 0,1 đối với MRLs |
| nhỏ hơn 0,05 | 0,5 x MRL |

Khi MRL được đặt ở giới hạn xác định của phương pháp phân tích, LCL cũng sẽ ở mức đó.

4.10 Biểu thị kết quả

Với mục đích quản lý, chỉ các số liệu đã được xác nhận mới được báo cáo, biểu thị như đã được xác định bởi MRL. Giá trị bằng không phải được báo cáo là nó thấp hơn so với mức hiệu chuẩn thấp nhất, thấp hơn so với mức đã được tính bởi phép ngoại suy. Nói chung kết quả không được hiệu chỉnh đối với độ thu hồi, và chúng chỉ có thể được điều chỉnh nếu độ thu hồi khác nhiều so với 100 %. Nếu các kết quả được báo là đã điều chỉnh độ thu hồi, khi đó cả giá trị điều chỉnh và giá trị đo được phải được nêu ra. Cơ sở của việc điều chỉnh cũng phải được báo cáo. Khi các kết quả phân tích dương tính thu được bằng các phép xác định bản sao (như trên các cột GC khác nhau, bằng các đầu phát hiện khác nhau hoặc dựa trên các ion khác nhau của phổ khối) của một phần mẫu thử đơn lẻ (mẫu phụ), giá trị hợp lệ thấp nhất thu được phải được đưa vào báo cáo. Khi các kết quả dương tính thu được từ phép phân tích nhiều phần mẫu thử nhiều phần, giá trị trung bình số học của giá trị hợp lệ thấp nhất thu được từ mỗi phần mẫu thử phải được báo cáo. Nói chung, cần lưu ý đến độ chụm tương đối 20 % đến 30%, các kết quả phải được biểu thị chỉ bằng 2 con số có ý nghĩa (ví dụ: 0,11; 1,1; 11 và $1,1 \times 10^2$). Vì ở nồng độ thấp hơn, độ chụm có thể nằm trong giới hạn khoảng 50 %, giá trị dư lượng nhỏ hơn 0,1 cần được biểu thị chỉ bằng một con số có nghĩa.

Sơ đồ II.1. Tổng quan về đánh giá phê duyệt của phương pháp



Sơ đồ II.2. Khẳng định tính ổn định của chất phân tích

Tính ổn định của chất phân tích trong dung môi

Đã biết

Chưa biết

Có

Có

Xác định tính ổn định

Tính ổn định của chất phân tích trong chất chiết và mẫu

Đã biết

Chưa biết

Không

Các điều kiện cải tiến

Không phù hợp với mục đích sử dụng

Có

Xác định tính ổn định

Không

Các điều kiện cải tiến

Khẳng định khả năng thực hiện
Hoặc
Xác nhận đầy đủ giá trị sử dụng của phương pháp

Có

Không

Không phù hợp với mục đích sử dụng

Bảng 1 – Tổng hợp các thông số cần đánh giá về tính hiệu lực của phương pháp

| Các thông số cần thử nghiệm | Phương pháp phân tích hiện hành, theo đó các phép thử trước của thông số cho thấy phép thử đó là hợp lệ đối với một hoặc nhiều chất phân tích/hỗn hợp chất nền | | | | | Cải tiến phương pháp hiện hành | Phương pháp mới, chưa được xác nhận về giá trị sử dụng | Các loại thực nghiệm có thể kết hợp |
|--|--|--|------------------------|--|--|--|---|---|
| | Kiểm tra tính năng thực hiện | Chất nền bổ sung | Chất phân tích bổ sung | Nồng độ thấp hơn nhiều của chất phân tích | Phòng thử nghiệm khác | | | |
| Tính đặc thù (chứng tỏ rằng tín hiệu phát hiện là do chất phân tích, không phải hợp chất khác) | Không (miễn sao các tiêu chí đối với mẫu trắng chất nền và việc khẳng định chất phân tích được đáp ứng) | Có, nếu độ nhiễu do chất nền biểu thị rõ ràng trong QC | Có | Có, nếu độ nhiễu do chất nền biểu thị rõ ràng trong QC | Kiểm tra kỹ sẽ không cần thiết nếu tính năng thực hiện của hệ thống phép xác định là tương tự hoặc tốt hơn | Có hoặc không. Các biện pháp kiểm tra kỹ có thể cần thiết nếu hệ thống phép xác định về cơ bản khác với hoặc khi việc mở rộng độ nhiễu từ chất nền là không chắc chắn | Có. Biện pháp kiểm tra kỹ có thể cần thiết nếu hệ thống xác định là khác nhau hoặc khi việc mở rộng độ nhiễu từ chất nền là không đảm bảo, so với các phương pháp hiện hành | |
| Phạm vi phân tích, độ thu hồi thông qua việc chiết tách, làm sạch, tạo dẫn xuất và phép đo | Có | Có | Có | Có | Có | Có | Có | Dải hiệu chuẩn, dải phân tích LOD/LOQ hiệu ứng chất nền |
| Dải hiệu chuẩn để xác định chất phân tích | Không | Không | Có | Có | Có, đối với chất phân tích đại diện | Có, đối với chất phân tích đại diện | Có, đối với chất phân tích đại diện | Độ tuyến tính, độ tái lập và dấu hiệu/độ nhiễu |

Bảng 1 (tiếp theo)

| Các thông số cần thử nghiệm | Phương pháp phân tích hiện hành, theo đó các phép thử trước của thông số cho thấy phép thử đó là hợp lệ đối với một hoặc nhiều chất phân tích/hỗn hợp chất nền | | | | | Cải tiến phương pháp hiện hành | Phương pháp mới, chưa được xác nhận về giá trị sử dụng | Các loại thực nghiệm có thể kết hợp |
|--|--|--|---|---|-----------------------|--|--|---|
| | Kiểm tra tính năng thực hiện | Chất nền bổ sung | Chất phân tích bổ sung | Nồng độ thấp hơn nhiều của chất phân tích | Phòng thử nghiệm khác | | | |
| LOD và LOQ | Không | Có, từng phần nếu chất nền là từ một nhóm đại diện | Có, từng phần đối với chất phân tích đại diện | Có | Có | Có | Có | Mức hiệu chuẩn thấp nhất và số liệu độ thu hồi mức thấp |
| Giới hạn báo cáo, LCL | Có | Không | Không | Không | Không | Không | Không | |
| Tính ổn định của chất phân tích khi chiết mẫu ^{(A)(4)} | Không | Có, trừ khi chất nền là từ nhóm đại diện | Có, trừ khi chất phân tích được đại diện | Có | Không | Không, trừ khi việc chiết/dung môi cuối cùng là loại khác với loại khác, hoặc việc làm sạch không chặt chẽ lắm | Có, nếu việc chiết/dung môi cuối cùng là loại khác với loại sử dụng trong phương pháp hiện hành, hoặc việc làm sạch không cần chặt chẽ lắm so với phương pháp đã sử dụng | |
| Tính ổn định của chất phân tích trong quá trình bảo quản mẫu ^{(A)(7)} | Có | Có | Có | Lý tưởng | Không | Không | Không | |
| Hiệu quả chiết ^{(A)(4)} | Không | Lý tưởng | Lý tưởng | Lý tưởng | Không | Không, trừ khi áp dụng các điều kiện chiết khác nhau | Có, trừ khi có sử dụng quy trình chiết đã được thử nghiệm trước đó | |

Bảng 1 (kết thúc)

| Các thông số cần thử nghiệm | Phương pháp phân tích hiện hành, theo đó các phép thử trước của thông số cho thấy phép thử đó là hợp lệ đối với một hoặc nhiều chất phân tích/hỗn hợp chất nền | | | | | Cải tiến phương pháp hiện hành | Phương pháp mới, chưa được xác nhận về giá trị sử dụng | Các loại thực nghiệm có thể kết hợp |
|---|--|---|--|---|----------------------------------|--|--|-------------------------------------|
| | Kiểm tra tính năng thực hiện ^{a)} | Chất nền bổ sung | Chất phân tích bổ sung | Nồng độ thấp hơn nhiều của chất phân tích | Phòng thử nghiệm khác | | | |
| Tính đồng nhất ^{a)} của các mẫu chất phân tích | Có ^{b)} | Không, trừ khi chất nền khác về căn bản | Không | Không | Không, trừ khi thay đổi thiết bị | Không, trừ khi thay đổi thiết bị | Có, trừ khi sử dụng một quy trình xử lý mẫu đã thử trước đó | Xem ở phần dưới |
| Tính ổn định của chất phân tích khi xử lý mẫu ^{a)} | Không | Có, trừ khi có chất nền đại diện | Có, trừ khi có chất phân tích đại diện | Lý tưởng | Không | Không, trừ khi quy trình liên quan đến nhiệt độ cao hơn, thời gian dài hơn, quá trình nghiền kém hơn.. | Không, trừ khi quy trình liên quan đến nhiệt độ cao hơn, thời gian dài hơn, quá trình nghiền tốt hơn... so với các quy trình đã được xác nhận về giá trị sử dụng | Độ lặp lại, độ tái lập |

* Việc kiểm soát chất lượng đang diễn ra;

^{a)} Nếu không có sẵn các thông tin liên quan;

^{b)} Các chất phân tích đại diện có thể được chọn căn cứ theo các đặc tính thủy phân, oxy hoá và phát quang

^{c)} Dữ liệu ổn định trong/trên các sản phẩm đại diện cần cung cấp đầy đủ thông tin. Phép thử bổ sung sẽ được yêu cầu, ví dụ như, khi:

a) các mẫu được bảo quản quá khoảng thời gian đã thử nghiệm (như tính ổn định đã thử đến 4 tuần và sự hao hụt chất phân tích có thể đo được xuất hiện trong khoảng thời gian này, các mẫu không được phân tích trong 6 tuần);

b) phép thử ổn định được tiến hành ở nhiệt độ $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nhưng mẫu lại được bảo quản trong phòng thử nghiệm ở nhiệt độ $\leq 5\text{ }^{\circ}\text{C}$;

c) các mẫu thường được bảo quản ở nhiệt độ $\leq -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ nhưng nhiệt độ bảo quản lại là $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$)

^{a)} Thông tin về hiệu quả của việc chiết có thể có sẵn trong các nhà máy sản xuất hoặc công ty mà đăng ký hợp chất đó;

^{b)} Đôi khi nên lặp lại phép phân tích các phần mẫu thử của mẫu dương tính.

Bảng 2 – Các thông số được đánh giá đối với hiệu lực phương pháp trong các tình huống khác nhau

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Phương pháp định tính | Tiêu chí | Phương pháp sàng lọc | Ý kiến góp ý |
|---|--|---|---|--|----------------------|---|
| 1 Trong phạm vi trong phòng thử nghiệm (phòng thử nghiệm đơn) thực hiện phương pháp tối ưu hoá | | | | | | |
| 1.1 Tính ổn định của chất phân tích trong chất chiết và các dung dịch chuẩn | $At \leq AL$, hoặc với các dư lượng có thể được phát hiện dễ dàng | ≥ 5 phép thử kép ở mỗi điểm thích hợp đúng lúc (kể cả điểm 0) và đối với mỗi chất phân tích/sản phẩm đại diện. Bổ sung chất chiết mẫu thử trắng vào phép thử tính ổn định của dư lượng. So sánh nồng độ chất phân tích trong dung dịch được bảo quản và dung dịch chuẩn mới pha | Không có thay đổi đáng kể về nồng độ chất phân tích trong chất chiết được bảo quản và các chất chuẩn phân tích ($P = 0,05$) | Tại cuối khoảng thời gian bảo quản, các dư lượng đã bổ sung tại LCL có thể phát hiện được | Phương pháp sàng lọc | Phép thử tính ổn định trong chất chiết được yêu cầu nếu phương pháp phân tích bị huỷ bỏ trong quá trình xác định, và nguyên liệu thì chắc chắn sẽ được bảo quản lâu hơn so với khi xác định độ chụm, hoặc nếu các độ thu hồi thấp thu được trong quá trình tối ưu hoá phương pháp. Khi tối ưu hoá phương pháp, độ thu hồi cần được đo theo các chất chuẩn hiệu chuẩn cả "cũ" và "mới" chuẩn bị, nếu chất chiết thu hồi được bảo quản. Thời gian bảo quản phải bao gồm khoảng thời gian dài nhất chắc chắn được yêu cầu để hoàn thành phép phân tích. |
| 1.2 Chức năng hiệu chuẩn Hiệu ứng chất nền | LCL đối với 2 (3) lần AL | Thử các tính năng về độ nhạy của mọi chất phân tích có trong phương pháp với ≥ 2 phép kép tại ≥ 3 mức chất phân tích cộng với mẫu trắng. Đối với độ đáp ứng không tuyến tính, xác định đường cong ở ≥ 7 mức và ≥ 3 phép kép. Thử hiệu ứng chất nền với tất cả các chất phân tích và chất nền. Sử dụng ngẫu nhiên các chất chuẩn được chuẩn bị trong dung môi và chất chiết mẫu ngẫu nhiên. | Đối với hiệu chuẩn tuyến tính: hệ số thu hồi đối với dung dịch chuẩn phân tích ($r \geq 0,99$, SD, của dư lượng ($S_{y,x}$) $\leq 0,1$ Đối với hàm đa thức ($r \geq 0,98$, hiệu ứng chất nền được khẳng định nếu độ sai biệt là đáng kể ở $P = 0,05$ | Đối với hiệu chuẩn tuyến tính: hệ số thu hồi ($r \geq 0,98$, SD của dư lượng $\leq 0,2$. Đối với hàm đa thức ($r \geq 0,95$. | Phương pháp sàng lọc | Các thông số hiệu chuẩn có thể được thiết lập trong khi tối ưu hoá quy trình, xác định độ chụm hoặc khả năng phát hiện. Chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn có nồng độ khác nhau. Đối với MRM, tiến hành hiệu chuẩn với hỗn hợp chất phân tích ("hỗn hợp chuẩn"), có thể được phân tách hợp lý bằng hệ thống sắc ký. Sử dụng chất nền phù hợp với chất chuẩn phân tích cho các phép thử tiếp sau nếu hiệu ứng chất nền là đáng kể. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp có thể không cho những thông tin xác định về hiệu ứng chất nền, vì hiệu ứng chất nền thay đổi theo thời gian, theo mẫu (đôi khi), theo cột phân tích... |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Tiêu chí | | Ý kiến góp ý |
|--|-----------------------------|--|---|--|--|
| <p>1.3 Phạm vi phân tích</p> <p>Độ chính xác, độ đúng, độ chụm, giới hạn phát hiện (LD), giới hạn định lượng (LOQ)</p> | <p>LCL đối với 2 (3) AL</p> | <p>Phân tích sự kết hợp chất nền chất phân tích đại diện: ≥ 5 phần phân tích điểm ở Zero, LCL, AL và ≥ 3 phép thử kép ở mức AL từ 2 đến 3. Phép thử độ thu hồi phải được phân cho các nhà phân tích, người sẽ sử dụng phương pháp đó, và các dụng cụ sẽ liên quan đến phép phân tích</p> | <p>LOQ phải thích hợp với mục đích.</p> <p>Độ thu hồi trung bình và CV_A xem Bảng 3.</p> <p>Dư lượng trung bình đo được trong các chất chuẩn không khác nhiều so với giá trị nhất định ($P = 0,05$)</p> | <p>Tất cả độ thu hồi có thể được phát hiện ở LCL</p> | <p>Người phân tích cần chứng minh rằng phương pháp này là thích hợp để xác định sự có mặt của chất phân tích ở mức AL thích hợp với sai số tối đa đã quy định (âm tính sai và dương tính sai).</p> <p>Đối với MRM, mức bổ sung của mẫu trắng phải gồm cả ALs của chất phân tích được đại diện. Tiếp theo đó chúng có thể không tương ứng với AL thực đối với chất phân tích đại diện.</p> <p>Cố định các phần mẫu phân tích bằng các hỗn hợp chuẩn.</p> |
| | | | | | <p>Phạm vi độ chính xác và độ chụm được xác định cho chất phân tích đại diện/sự kết hợp chất nền có thể được xem là điển hình đối với phương pháp đó, và sẽ được sử dụng như là các tiêu chí có khả năng áp dụng mở rộng đối với chất phân tích mới và sản phẩm mới, cũng như hướng dẫn ban đầu về kiểm tra chất lượng nội bộ của phương pháp.</p> <p>Báo cáo các kết quả chưa điều chỉnh, độ thu hồi trung bình và CV_A của phép thử kép. CV_A là tương đương với độ tái lập phòng thử nghiệm của phép phân tích mẫu.</p> <p>* Hiệu chỉnh các kết quả về độ thu hồi trung bình nếu nó khác rất nhiều so với 100 %;</p> <p>* Khi đó phương pháp này không cho phép tính được độ thu hồi, độ chính xác và độ chụm là những thông số hiệu chuẩn.</p> |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--|----------------------------------|---|---|---|---|
| 1.4 Đặc trưng và tính chọn lọc của phép phát hiện chất phân tích | Ở mức hiệu chuẩn thấp nhất (LCL) | <p>Xác định bằng phương pháp đo phổ khối, bằng một kỹ thuật cụ thể tương tự, hoặc bằng sự kết hợp các kỹ thuật phân tách và phát hiện thích hợp có sẵn.</p> <p>Phân tích ≥ 5 phép thử trắng của mỗi sản phẩm đại diện thu được tốt nhất là từ các nguồn khác nhau. Báo cáo tính tương đương của chất phân tích về độ đáp ứng mẫu thử trắng.</p> <p>Xác định và báo cáo độ chọn lọc (&) của detector và độ nhạy tương đối (RRF) của chất phân tích đại diện với các detector cụ thể được sử dụng</p> | <p>Độ nhạy đo được hiếm khi là do chất phân tích. Các dư lượng đo được trên 2 cột khác nhau phải nằm trong giải tới hạn các phép xác định sắc ký lặp lại.</p> | <p>Tỉ số giữa các mẫu dương tính sai (sai số β) tại AL phải điển hình $< 5\%$.</p> | <p>Chỉ áp dụng đối với sự kết hợp kỹ thuật phân tách và phát hiện đặc thù. Các mẫu đã biết có thể được sử dụng thay cho những mẫu chưa được biết đến, dành cho các chất phân tích khác với chất mà đã được sử dụng trong quá trình xử lý.</p> <p>Độ ổn định của chất nền mẫu có thể ảnh hưởng đáng kể đến độ nhạy của mẫu trắng. Giá trị phép thử trắng cũng sẽ phải thường xuyên được kiểm tra khi thực hiện quá trình xác nhận (xem điều 4 ở dưới).</p> <p>Báo cáo về các pic điển hình có mặt trong các chất chiết của mẫu trắng.</p> <p>LCL tốt nhất là $\leq 0,3$ AL, trừ khi AL được đặt ở</p> |
| | | | | | <p>hoặc khoảng giới hạn định lượng.</p> <p>Phép thử có thể được thực hiện kết hợp với phép xác định giới hạn quyết định và khả năng phát hiện và sẽ đồng thời cung cấp các thông tin hoặc RRTs và RRFs tương ứng của hợp chất.</p> <p>Thay đổi các điều kiện sắc ký nếu đáp ứng mẫu trắng có nhiều với chất phân tích hoặc sử dụng hệ thống phát hiện thay thế. Sự kết hợp thích hợp của các detector chọn lọc làm tăng tính đặc thù, vì các thông tin về chất phân tích sẽ tăng lên.</p> |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|---|---|--|---|--|--|
| 1.5 Tính chọn lọc của việc phân tách | Tại mức AL | Xác định giá trị RRT cho tất cả các chất phân tích sẽ được thử nghiệm bằng phương pháp này (không chỉ đối với các hợp chất đối chứng). Khi các kỹ thuật sắc ký được sử dụng không có máy phát hiện quang phổ, thì áp dụng các nguyên tắc phân tách khác nhau và/hoặc xác định các RRT-trên các cột phân cực khác nhau. Xác định và báo cáo lại các quá trình phân giải (Rs) và các yếu tố tailing (T _i) của các pic tới hạn. | Các pic lớn gần nhất phải được tách khỏi pic chất phân tích xác định ít nhất một độ rộng ở 10 % chiều cao pic, hoặc yêu cầu phát hiện chọn lọc hơn của tất cả các chất cần phân tích. | Xác nhận tạm thời các chất phân tích được thử nghiệm. (Không phải tất cả chất phân tích đều cần được phân tách) | Trừ khi sự phân tách bằng sắc ký và phát hiện quang phổ được sử dụng kết hợp, báo cáo giá trị RRT trên các cột phân cực khác nhau, cho phép thử nghiệm phân tách tất cả các chất phân tích (R tối thiểu ≥ 1,2). Phép thử có thể kết hợp với phép xác định hàm số hiệu chuẩn và hiệu ứng chất nền (xem 1.7). |
| 1.6 Tính đồng nhất của chất phân tích trong mẫu phân tích | Ở khoảng AL hoặc các dư lượng có thể để phát hiện (LOQ) | Phân tích ≥ 5 phần mẫu thử lặp lại của một sản phẩm đại diện từ mỗi nhóm (Bảng 5), sau chế biến. Xác định CV _{sp} bằng phân tích độ biến thiên. Cần kiểm tra tính đồng nhất của chất phân tích bằng các chất phân tích ổn định đã biết. | CV _{sp} ≤ 10% | CV _{sp} ≤ 15 %. Đối với phương pháp sàng lọc, có thể mong muốn tiến hành trên phần mẫu thử trong đó dư lượng mong muốn có thể là cao nhất (như ở vỏ quả bưởi) và việc đạt được tính đồng nhất có thể là không cần thiết. | Tốt nhất sử dụng các sản phẩm có dư lượng bề mặt ổn định đã bị nhiễm hoặc sử lý bề mặt của một phần nhỏ đơn vị tự nhiên (< 20 %) của mẫu thử phòng thử nghiệm trước khi cắt hoặc thái thành những chi tiết nhỏ nhất đại diện của việc xử lý mẫu. Quá trình xử lý được xác nhận để sử dụng với bất cứ một quy trình tiếp theo nào. Việc đánh giá phê duyệt có thể áp dụng cho các sản phẩm khác có cùng đặc điểm vật lý, và nó là độc lập với chất phân tích. Phép thử có thể kết hợp với kiểm tra tính ổn định của chất phân tích (Xem 1.7 của Bảng này). Xác định hằng số ^{3,4} lấy mẫu để tính kích cỡ phần phân tích yêu cầu để đáp ứng các tiêu chí về chất lượng của CV _{sp} ≤ 10 % theo quy định. CV _{sp} có thể không cần phải xác định riêng biệt nếu CV _i của dư lượng đã bị nhiễm nằm trong các giới hạn đã quy định ở Bảng 2. |

³ Wallace, D và Kratochvil, B, Sinh Hoá học, 59, 1987,226.

⁴ Ambrus, A, Solymosne, E.M and Kosos, I. J Environ. Sci. And Health, B31, 1996,443.

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|---|-----------|---|--|--|--|
| 1.7 Tính ổn định của chất phân tích trong quá trình xử lý mẫu | Khoảng AL | <p>Bổ sung các sản phẩm bằng các lượng đã biết chất phân tích trước khi xử lý mẫu. Phân tích ≥ 5 phép thử kép của mỗi sản phẩm, sau xử lý.</p> <p>áp dụng một hợp chất đã được đánh dấu ổn định với chất phân tích được thử. Đối với MRM và nhóm các phương pháp thử cụ thể, GSM, một vài chất phân tích, có thể được phân tách tốt, có thể được thử cùng với nhau.</p> | <p>Tính ổn định của chất phân tích có thể không cần cụ thể nếu độ thu hồi tổng thể trung bình của chất phân tích bổ sung trước khi xử lý mẫu (bao gồm độ thu hồi quy trình) và CV_A nằm trong giới hạn quy định ở Bảng 3.</p> <p>Xác định tính ổn định nếu độ thu hồi toàn phần và độ thu hồi quy trình khác nhau nhiều ($P = 0,05$)</p> | <p>Chất phân tích bổ sung ở LCL vẫn có thể phát hiện được sau khi xử lý.</p> | <p>Nhiệt độ mẫu trong quá trình xử lý có thể đạt tới hạn. Xử lý được đánh giá phê duyệt để sử dụng với quy trình tiếp theo nào đó. Tính có hiệu lực có thể là cụ thể đối với chất phân tích và/hoặc chất nền mẫu.</p> <p>Để thử tính ổn định, xác định độ thu hồi trung bình và CV_L của hợp chất được đánh dấu ổn định và đáng tin cậy. Sử dụng những hợp chất này cho phép thử QA nội bộ (xem điều 4).</p> <p>Biểu thị tỷ số nồng độ trung bình của hợp chất ổn định và đáng tin cậy để chỉ ra được tính ổn định của dư lượng. CV's của các hợp chất ổn định sẽ cho thấy trong phạm vi phòng thử nghiệm độ lặp lại là đúng.</p> |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--------------------|--|---|--|---|--|
| 1.8 Hiệu quả chiết | Khoảng AL hoặc dư lượng có thể đo được | <p>Phân tích ≥ 5 phần mẫu thử lặp lại hoặc nguyên liệu đối chứng có dư lượng đã bị nhiễm.</p> <p>So sánh quy trình đối chứng (hoặc quy trình khác) với quy trình đang thử nghiệm.</p> <p>Đối với MRM, chất phân tích được thử tốt nhất là cần có giới hạn giá trị Pow rộng. Chỉ được xác định khi sử dụng các dư lượng đã bị nhiễm.</p> | <p>Đối với các mẫu có dư lượng đã bị nhiễm, kết quả trung bình thu được bằng quy trình chuẩn và quy trình đã thử nghiệm không được khác đáng kể $P=0,05$ áp dụng CV_L khi tính toán.</p> <p>Hoặc giá trị nhất định của chất chuẩn đối chứng và dư lượng trung bình không được khác nhau nhiều ở mức $P = 0,05$ khi tính với CV_A của phương pháp đã thử nghiệm. Khi CV_A của phương pháp lớn hơn 10 %, số lượng phép phân tích lặp lại phải tăng để giữ sai số chuẩn tương ứng của giá trị trung bình $< 5 \%$.</p> <p>Nói cách khác, định tính và báo cáo lại hiệu ứng chiết (ngoại trừ độ thu hồi của pha phân tích tiếp theo sau quá trình chiết).</p> | <p>Các dư trung bình bị nhiễm, đã biết là sẽ có mặt tại hoặc khoảng LOQ hoặc LCL, thực tế thường có thể phát hiện được trong mẫu.</p> | <p>Nhiệt độ chất chiết, tốc độ của bộ trộn hoặc Ultra Turrax, thời gian chiết và tỉ lệ dung môi/nước/chất nền có thể ảnh hưởng lớn đến hiệu quả quá trình chiết. ảnh hưởng của những thông số này có thể được kiểm tra bằng các phép thử sơ bộ. Các điều kiện tối ưu hoá cần được giữ càng ít thay đổi càng tốt.</p> <p>Nhìn chung quá trình đánh giá phê duyệt có thể áp dụng cho các sản phẩm trong một nhóm và các chất phân tích đại diện có cùng các đặc điểm về hoá học và vật lý. đánh giá phê duyệt là quá trình độc lập với các trình tự tiếp theo trong phương pháp.</p> <p>Độ thu hồi trung bình của mỗi phương pháp phải được xác định từ các phần mẫu phân tích. Hiệu chỉnh các kết quả theo độ thu hồi trung bình của phép phân tích nếu nó khác nhiều so với 100 %.</p> <p>Theo một số qui định, khả năng bộ sàng lọc cần được thử nghiệm để phát hiện một giá trị dương tính ở độ tin cậy là 95 %.</p> |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--|-----------|--|--|--|--|
| 1.9 Tính ổn định của chất phân tích trong quá trình bảo quản mẫu | Khoảng AL | Phân tích các mẫu vừa mới đồng nhất có chứa các dư lượng đã nhiễm, hoặc đồng hoá và spike các mẫu trắng (thời gian là 0), và khi đó phân tích các mẫu được bảo quản theo trình tự thông thường của phòng thử nghiệm (thường ở nhiệt độ $\leq -18^{\circ}\text{C}$). Thời gian bảo quản cần phải lớn hơn hoặc bằng so với thời gian dài nhất đã dự đoán giữa quá trình lấy mẫu và phân tích. | Không thấy sự hao hụt nhiều của chất phân tích trong suốt quá trình bảo quản ($P = 0,05$). | Chất phân tích được bổ sung ở mức hiệu chuẩn thấp nhất, LCL, vẫn có thể được phát hiện sau quá trình bảo quản. | Việc bảo quản được phê chuẩn để sử dụng cho một quy trình tiếp theo nào đó. Đánh giá phê duyệt là đặc thù đối với chất phân tích. Tuy nhiên, nhìn chung số liệu về tính ổn định của quá trình bảo quản thu được với các chất nền mẫu đại diện có thể được xem xét là có hiệu lực đối với các chất nền tương tự. Các chất nền phải được lựa chọn có lưu ý đến tính ổn định hoá học (như sự phân giải) của chất phân tích và mục đích sử dụng của chất này. Có thể thu được các thông tin có ích về tính ổn định trong suốt quá trình bảo quản từ các kết quả đánh giá JMPR ⁵ hoặc từ các hồ sơ gửi lên để đăng ký. |
| | | ≥ 5 phép thử kép tại mỗi thời điểm. Khi các phần mẫu thử bảo quản được phân tích ≥ 4 trường hợp, thử nghiệm ≥ 2 phần mẫu cho vào (spiked), và ≥ 1 phần mẫu trắng đã cho vào tại thời điểm phân tích. Các phần mẫu phân tích cần được hoà tan hết ngay trước khi chiết hoặc trong khi chiết. | | | Báo cáo về nồng độ dư lượng ban đầu, nồng độ dư lượng vẫn còn, và độ thu hồi của quy trình phân tích. |
| | | | | | Tránh việc bảo quản không cần thiết các mẫu bằng cách lập kế hoạch kỹ càng cho phương pháp lấy mẫu và phép phân tích tiếp theo trong quá trình thoả thuận về hành chính, mà không phải là một phần của phương pháp phân tích. |

⁵ Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật trong thực phẩm của FAO – Các phương pháp đánh giá: Tài liệu của FAO được xuất bản hàng năm về Sản xuất và Bảo vệ thực vật.

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--|---------------------|---|---|---|--|
| 2 Mở rộng phương pháp đã được xác nhận về giá trị sử dụng | | | | | |
| 2.1 Tính ổn định của chất phân tích trong quá trình bảo quản mẫu, xử lý và trong các chất chiết và dung dịch chuẩn | Xem 1.1; 1.2 và 1.9 | | | | Chỉ khi các thông tin về tính ổn định trong các điều kiện xử lý và trên chất nền đại diện là không có sẵn. |
| 2.2 Hàm số hiệu chuẩn, hiệu ứng chất nền | LCL đến 2 (3) AL: | Quá trình hiệu chuẩn ba điểm bao quanh AL có hoặc không có chất chuẩn phân tích thích hợp với chất nền. | Đối với hiệu chuẩn tuyến tính: hệ số hồi qui đối với các dung dịch chuẩn phân tích (r) $\geq 0,99$. SD của dư lượng liên quan ($S_{y,x}$) $\leq 0,1$. Đối với hàm số đa thức (r) $\geq 0,98$. | Đối với hiệu chuẩn tuyến tính: hệ số hồi qui đối với các dung dịch chuẩn phân tích (r) $\geq 0,98$. SD của dư lượng liên quan ($S_{y,x}$) $\leq 0,2$. Đối với hàm số đa thức (r) $\geq 0,95$. | Đánh giá phê duyệt của phương pháp có thể không cho các thông tin xác định về hiệu ứng chất nền, vì các hiệu ứng chất nền thay đổi theo thời gian theo mẫu (thỉnh thoảng), theo cột... |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|------------------------------------|--------|---|---|---|---|
| 2.3 Độ chính xác, độ chụm, LD, LOQ | Tại AL | <p>Lập kế hoạch trước:</p> <p>(a) Phân tích 3 phần mẫu phân tích của chất nền mẫu đại diện ở mức AL. Tìm thấy kết quả không mong muốn như sau:</p> <p>Tăng cường 2 tốt nhất là 3 phần bổ sung mẫu phân tích ở mức chất phân tích mới. Tính độ thu hồi của chất phân tích đã được bổ sung. Sử dụng chất nền mẫu tương tự cho phép thử độ thu hồi nếu không có sẵn lượng mẫu phân tích thích hợp...</p> | <p>Dư lượng thu lại cần nằm trong khoảng giới hạn độ lặp lại của phương pháp:</p> <p>3 phần mẫu:</p> $C_{max} - C_{min} \leq 3.3 CV_{Anp}Q;$ <p>Hai phần mẫu:</p> $C_{max} - C_{min} \leq 2.8* CV_{Anp}Q.$ <p>CV_{Anp} là hệ số biến thiên độ lặp lại điển hình của phương pháp sẽ được công nhận. Q là độ thu hồi trung bình của chất phân tích mới, và nó sẽ phù hợp với Bảng 3.</p> | <p>Các chất phân tích thêm vào các mẫu trắng ở mức đã định phải được đo trong mọi phép thử.</p> | <p>Sử dụng CV_{Anp} được xây dựng trong khi đánh giá phê duyệt của phương pháp.</p> <p>Phương pháp này chỉ nên thử với các sản phẩm đại diện cho mục đích sử dụng dự định (có thể lạm dụng) của chất phân tích.</p> <p>Một số trong hầu hết các vấn đề phổ biến khi chuyển giao phương pháp liên quan đến độ chính xác và độ chụm. Xem các yêu cầu về độ chính xác và độ chụm trong các tài liệu hướng dẫn của ICH Q2(R1) và các tài liệu hướng dẫn của FDA về độ chính xác và độ chụm. Đảm bảo các tài liệu hướng dẫn này được áp dụng trong quá trình chuyển giao phương pháp. Xem các tài liệu hướng dẫn của FDA về độ chính xác và độ chụm. Đảm bảo các tài liệu hướng dẫn này được áp dụng trong quá trình chuyển giao phương pháp.</p> |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|---|------------------|--|---|---|---|
| 2.4 Đặc tính đặc thù và tính chọn lọc của phép phát hiện chất phân tích | ở mức LCL | <p>Xác định bằng quang phổ khối, hoặc bằng sự kết hợp thích hợp của kỹ thuật phân tách và phát hiện có sẵn.</p> <p>Lập kế hoạch trước;</p> <p>(a) Phân tích một mẫu trắng đại diện từ mỗi nhóm sản phẩm quan tâm (trong đó chất phân tích mới sẽ có mặt). Phân tích chất nền mới với các hợp chất đại diện.</p> | <p>Độ nhạy đo được chỉ đo chất phân tích.</p> <p>Hệ thống phát hiện được sử dụng phải có những tính năng thực hiện của detector tương đương hoặc tốt hơn so với những tính năng áp dụng trong quá trình đánh giá phê duyệt của phương pháp.</p> | <p>Tỉ lệ các mẫu âm tính sai (sai số β) ở mức AL phải < 5%.</p> | <p>Khi việc mở rộng phương pháp cho một chất phân tích mới được đặt ra, khả năng áp dụng của phương pháp phải được kiểm tra đối với tất cả các chất nền mẫu đại diện trong đó có thể xuất hiện chất phân tích.</p> <p>Khi phát hiện thấy một chất phân tích không mong muốn, cần tiến hành kiểm tra đặc tính đối với chất nền.</p> <p>Cũng xem phần 1.4.</p> |
| 2.2 Hàm số hiệu chuẩn | LCL đến 2 (3) AL | <p>Tìm thấy các kết quả không mong đợi;</p> <p>(b) Kiểm tra đáp ứng của mẫu trắng (nếu có), hoặc chứng minh rằng đáp ứng đo được chỉ tương ứng với chất phân tích, sử dụng kỹ thuật tốt nhất đang có trong phòng thử nghiệm.</p> | <p>Các dư lượng đo được trên 2 cột khác nhau phải nằm trong phạm vi giới hạn tối hạn của các phép xác định sắc ký lặp lại. Thời gian duy trì tương ứng của các chất phân tích đại diện thu được trong quá trình phê duyệt của phương pháp và đo được phải trong khoảng 2 % đối với phép xác định GLC và 5 % đối với phép xác định HPLC.</p> | <p>Đối với hàm số đa thức $r^2 \geq 0,98$</p> <p>Đối với hàm số đa thức $r^2 \geq 0,95$</p> | <p>Độ nhạy của mẫu trắng không được gây ảnh hưởng đến chất phân tích, mà sẽ được đo trong mẫu. Báo cáo về các pic điển hình có mặt trong chất chiết mẫu trắng.</p> <p>Ảnh hưởng nền của chất chiết chất mới phải nằm trong giới hạn thu được đối với các sản phẩm/chất nền mẫu đại diện.</p> <p>Nếu tính chọn lọc của phép phát hiện không loại bỏ được đáp ứng của chất nền, sử dụng việc kết hợp thích hợp các cột sắc ký mà cho phép phân tách chất phân tích từ các pic chất nền. Xem các lựa chọn khác trong Bảng 6.</p> |
| Độ chọn lọc | LCL | <p>Kiểm tra và RRF của phép phát hiện và RRTs của các chất phân tích đại diện. So sánh RRT và độ nhạy của chất phân tích mới với các chất phân tích khác trong khi đánh giá phê duyệt của phương pháp và với độ nhạy mẫu trắng thu được khi mở rộng phương pháp đó và việc đánh giá phê duyệt trước đó của phương pháp</p> | | <p>Đối với phép thử với phép thử khác $r^2 \geq 0,95$</p> <p>Đối với phép thử với phép thử khác $r^2 \geq 0,95$</p> | <p>Đối với phép thử với phép thử khác $r^2 \geq 0,95$</p> <p>Đối với phép thử với phép thử khác $r^2 \geq 0,95$</p> |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|---|----------|---|---|--|---|
| 2.5 Tính chọn lọc của quá trình phân tách | Xem 1.5 | Xem 1.5 | Xem 1.5 | Xem 1.5 | Xem 1.5. Chỉ nếu như không có sẵn thông tin. |
| 2.6 Hiệu ứng chiết | Xem 1.8 | Xem 1.8 | Xem 1.8 | Xem 1.8 | Xem 1.8. Chỉ nếu như không có sẵn thông tin. |
| 3 Chấp nhận phương pháp đã được đánh giá phê duyệt trong phòng thử nghiệm khác | | | | | |
| 3.1 Độ tinh khiết và tính phù hợp của hoá chất, thuốc thử và các chất hấp thụ (hấp phụ) | | Thuốc thử trắng, khả năng áp dụng của các chất hấp thụ (hấp phụ) và thuốc thử. Thực hiện quá trình dẫn xuất không có và có mẫu. | Không ảnh hưởng đến độ nhạy ở trên mức 0,3 LCL. | Không ảnh hưởng đến độ nhạy ở trên mức 0,5 AL. | Một số trong hầu hết các vấn đề phổ biến khi chuyển giao phương pháp liên quan đến những khác biệt khi lựa chọn thuốc thử, dung môi và môi trường sắc ký, hoặc khả năng của thiết bị. Bất cứ lúc nào có thể, cố gắng thử để khẳng định các nguyên liệu thực và thiết bị sử dụng bởi những người xây dựng phương pháp này, nếu thông tin đó chưa được cung cấp cùng với phương pháp hoặc các ấn bản, như đã nhận được. Cần tiến hành các hoạt động thay thế sau khi phương pháp đó được sử dụng trong phòng thử nghiệm |
| 3.2 Tính ổn định của chất phân tích trong chất chiết và các dung dịch chuẩn | Xem 1.10 | Xem 1.1 | Xem 1.1 | Xem 1.1 | Phép thử này có thể bị huỷ nếu được cung cấp đầy đủ thông tin về tính ổn định của chất phân tích cùng với phương pháp đó hoặc nếu phương pháp đó đang thay thế một phương pháp đã sử dụng trước đó đối với chất phân tích và thông tin về tính ổn định của phương pháp trước đó cũng đã có. |

Bảng 2 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--|---------------------------------|---|--|---|-----------------------------|
| 3.3 Hàm số hiệu chuẩn, hiệu ứng chất nền | LCL đến 2 (3) lần AL | Thử các hàm số đáp ứng của chất phân tích đại diện được đưa vào phương pháp ở ≥ 3 mức chất phân tích cộng với mẫu trắng. Đối với độ nhạy không tuyến tính, xác định đường độ nhạy ở ≥ 7 mức và ≥ 3 phép thử kép. Thử hiệu ứng chất nền với các chất phân tích đại diện và chất nền đại diện. | Đối với hiệu chuẩn tuyến tính: hệ số hồi qui, đối với các dung dịch chuẩn phân tích ($r \geq 0,99$, SD của dư lượng tương ứng (S_{yx}) $\leq 0,1$. Đối với hàm số đa thức ($r \geq 0,98$. | Đối với hiệu chuẩn tuyến tính: hệ số hồi qui ($r \geq 0,98$, SD của dư lượng tương ứng (S_{yx}) $\leq 0,2$. Đối với hàm số đa thức ($r \geq 0,95$. | Xem 1.2. |
| 3.4 Độ chính xác và độ chụm của dải phân tích, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng | Chất chiết mẫu trắng và hoặc AL | Phân tích chất phân tích đại diện/kết hợp chất nền ≥ 5 phần mẫu phân tích cho mỗi mẫu trắng spiked ở 0 và AL, và 3 phần mẫu gây nhiễu ở mức 2 AL. Các phép thử độ thu hồi cần được phân công cho những người phân tích, người mà sẽ sử dụng phương pháp, và dụng cụ. | Độ thu hồi trung bình và CV _A phải trong khoảng các dải trong Bảng 3. | Tất cả các độ thu hồi có thể được phát hiện ở LCL. Các nguyên liệu chuẩn ở mức AL: chất phân tích được phát hiện. | Xem ý kiến góp ý trong 1.3. |

Bảng 2 – (kết thúc)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Tiêu chí | Ý kiến góp ý | |
|---|--|---|---|--|---|
| 3.5 Đặc tính và tính chọn lọc của phép phát hiện chất phân tích | ở mức AL | Kiểm tra đặc tính thực hiện của các detectơ sử dụng và so sánh chúng với detectơ quy định trong phương pháp. Kiểm tra độ nhạy của một mẫu trắng trong mỗi sản phẩm đại diện, nói cách khác tiến hành phép thử như mô tả trong phần 1.4. | Độ nhạy đo được chỉ là của chất phân tích. Tính năng thực hiện của detectơ (độ nhạy và độ chọn lọc) phải tương đương hoặc tốt hơn so với detectơ quy định trong phương pháp. Xem 1.4. | Tỉ số các mẫu âm tính sai (sai số) ở mức AL điển hình phải < 5%. | Độ nhạy tương ứng của các detectơ qui định có thể liên tiếp thay đổi tùy theo model. Kiểm tra đặc tính của phép phát hiện là rất quan trọng để thu được các kết quả đáng tin cậy. So sánh độ nhạy của mẫu trắng quan sát được với các pic điển hình được báo cáo lại trong chất chiết mẫu trắng. Xem các ý kiến góp ý khác trong 1.4. |
| 3.6 "Tính đồng nhất" chất phân tích | ở khoảng AL hoặc các dư lượng có thể dễ dàng phát hiện | Tiến hành thử hai sản phẩm đại diện có bản chất khác nhau. | $CV_{sp} < 10 \%$. | $CV_{sp} < 15 \%$ Đối với phương pháp sàng lọc, có thể mong muốn tiến hành phép thử trên phần mẫu trong đó các dư lượng mong muốn có thể ở mức cao nhất (ví như vỏ của quả bưởi) và việc đạt được tính đồng nhất có thể là không cần thiết. | Tiến hành các phép thử để khẳng định tính tương đồng khi áp dụng các điều kiện và khả năng áp dụng các thông số thu được bằng việc xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phòng thử nghiệm. Khi các kết quả thử tương tự CV_{sp} như đã báo cáo, thì các điều kiện xử lý mẫu có thể được xem xét là tương đương và các phép thử tiếp theo không cần đánh giá phê duyệt của phương pháp. |
| 3.7 Tính ổn định của chất phân tích trong các chất chiết và các dung dịch chuẩn | Xem 1.1 | Xem 1.1 | Xem 1.1 | Xem 1.1 | Có thể huỷ phép thử này nếu được cung cấp đầy đủ các thông tin về tính ổn định của chất phân tích cùng với phương pháp đó hoặc nếu phương pháp này đang thay cho một phương pháp đã sử dụng trước đó đối với chất phân tích và đối với phương pháp đó cũng đã có các thông tin đầy đủ về tính ổn định. |

Bảng 3 – Phạm vi tiêu chí đánh giá phê duyệt của phương pháp trong phòng thử nghiệm để phân tích dư lượng thuốc BVTV

| Nồng độ | Độ lặp lại | | Độ tái lập | | Độ đúng |
|---|------------|------------|------------|------------|-------------------------------------|
| | $CV_A\%^3$ | $CV_L\%^4$ | $CV_A\%^3$ | $CV_L\%^4$ | Dải giá trị trung bình % độ thu hồi |
| $\leq 1 \mu\text{g/kg}$ | 35 | 36 | 53 | 54 | 50 đến 120 |
| $> 1 \mu\text{g/kg} \leq 0,01 \text{ mg/kg}$ | 30 | 32 | 45 | 46 | 60 đến 120 |
| $> 0,01 \text{ mg/kg} \leq 0,1 \text{ mg/kg}$ | 20 | 22 | 32 | 34 | 70 đến 120 |
| $> 0,1 \text{ mg/kg} \leq 1 \text{ mg/kg}$ | 15 | 18 | 23 | 25 | 70 đến 110 |
| $> 1 \text{ mg/kg}$ | 10 | 14 | 16 | 19 | 70 đến 110 |

¹ Với các phương pháp đa dư lượng, có thể sẽ có chất phân tích xác định nào đó mà tiêu chí thực hiện định lượng của chúng không thể đáp ứng nghiêm ngặt được. Khả năng chấp nhận được các số liệu có được trong những điều kiện này sẽ tùy thuộc vào mục đích của phép phân tích như là khi kiểm tra tính phù hợp của MRL các tiêu chí đặt ra cần được đáp ứng đủ càng nhiều càng tốt về kỹ thuật, trong khi đó một dữ liệu nào đó thấp hơn MRL có thể chấp nhận được với độ không đảm bảo cao hơn.

² Dải độ thu hồi của những chất này là thích hợp với các phương pháp dư lượng đa. Có thể cần có những tiêu chí chặt chẽ hơn đối với một số mục đích như phương pháp cho chất phân tích đơn hoặc các dư lượng thuốc thú y (Xem Codex tập 3, 1996);

³ CV_A : Hệ số biến thiên của phép phân tích loại trừ quá trình xử lý mẫu. Thông số này có thể được ước tính từ phép thử thực hiện với các nguyên liệu đối chứng hoặc các phần chất phân tích đã được điều chỉnh trước khi chiết. Một nguyên liệu đối chứng được chuẩn bị trong phòng thử nghiệm có thể được sử dụng khi không có các nguyên liệu đối chứng đã được công nhận;

⁴ CV_L : Hệ số biến thiên tổng thể của các kết quả thử nghiệm, gồm cả tới 10% tinh thay đổi của các dư lượng giữa các phần chất phân tích (CV_{sp}).

CHÚ THÍCH Mức độ thay đổi các dư lượng trong các chất phân tích có thể được tính từ độ bất định của việc đo các phần mẫu lặp lại (CV) có chứa các dư lượng: $CV_L^2 = CV_{sp}^2 + CV_A^2$.

Bảng 4 – Yêu cầu đối với việc xác nhận các đặc tính

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Phương pháp định lượng | Tiêu chí Phương pháp sàng lọc | Ý kiến góp ý |
|--|-----|---|---|--|---|
| 4 Kiểm soát chất lượng (xác nhận đặc tính) | | | | | |
| 4.1 Phương pháp sử dụng hàng ngày | | | | | |
| 4.1.1 Tính phù hợp của hoá chất, thuốc thử và các chất hấp thụ | | Đối với mỗi mẻ mới: Thử các thuốc thử trắng, khả năng áp dụng của thuốc thử và chất hấp thụ (chất hấp thụ). Thực hiện dẫn xuất mà không có mẫu | Số hiệu phản ứng nhiều $\geq 0,3$ LCL | Số hiệu phản ứng nhiều $\geq 0,5$ LCL | Bảng cách khác, nếu mẫu trắng, quá trình hiệu chuẩn và độ thu hồi thoả mãn thì khi đó tính phù hợp của thuốc thử... được khẳng định. |
| 4.1.2 Hiệu chuẩn và phạm vi phân tích | | Việc hiệu chuẩn điểm đơn lẻ có thể được sử dụng với các hỗn hợp chất chuẩn, nếu điểm chặn của hàm số hiệu chuẩn gần bằng 0. Áp dụng quá trình hiệu chuẩn đa điểm (3 x 2) để khẳng định định lượng. | Mẻ phân tích có thể được xem xét là đang trong sự kiểm soát thống kê nếu chất chuẩn phân tích và chất chiết mẫu được luân phiên nhau bơm vào, và SD của dư lượng tương đối tính được $\leq 0,1$. | Chất phân tích được phát hiện tại LCL. | Dung dịch chuẩn và mẫu cần được luân phiên bơm vào. Dùng với các chất bơm chuẩn thích hợp có thể tiết kiệm thời gian thay cho việc hiệu chuẩn đa điểm đặc biệt nếu không có sẵn các bộ lấy mẫu tự động. Vi độ cảm ứng hệ thống thường thay đổi nên việc hiệu chuẩn đa điểm phải được thực hiện thường xuyên để khẳng định rằng điểm chặn là gần bằng 0. Hiệu chuẩn đa điểm là không cần thiết để khẳng định về định lượng nếu chất hiệu chuẩn rất gần với nồng độ của mẫu. |

Bảng 4 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Phương pháp định lượng | Tiêu chí Phương pháp sàng lọc | Ý kiến góp ý |
|-------------------------------|-----------------------------|--|---|-------------------------------|--|
| 4.1.3 Độ chính xác và độ chụm | Trong một phạm vi phân tích | Đưa vào mỗi mẻ phân tích ≥ 1 mẫu có bổ sung hỗn hợp chuẩn, hoặc phân tích lại phần giống nhau của mẫu dương tính. | <p>Đặc tính thực hiện của detector và cột sắc ký phải bằng hoặc tốt hơn đặc tính của detector đã quy định trong phương pháp.</p> <p>Tốt nhất là mọi độ thu hồi cần nằm trong giới hạn cảnh báo của biểu đồ kiểm soát xây dựng theo phần 4.5.2. Trên một đường chạy dài của 20 mẫu hoặc 100 mẫu có thể lần lượt nằm ngoài giới hạn cảnh báo và giới hạn tác dụng. Mẻ phân tích cần được lập lại nếu có bất cứ một độ thu hồi nào nằm ngoài giới hạn tác dụng, hoặc kết quả phép phân tích lặp lại của mẫu dương tính vượt quá giới hạn tới hạn.</p> $C_{max} - C_{min} > 2.8 \cdot CV_{Ltyp} \cdot Q$ <p>Q là dư lượng trung bình thu được từ các phép đo của mẫu kép, CV_{Ltyp} là thông số đo trong độ tái lập phòng thử nghiệm, mà bao gồm độ không đảm bảo kết hợp của chế biến và phân tích mẫu.</p> | | <p>Bổ sung phần phân tích bằng các hỗn hợp chuẩn. Thay các hỗn hợp chuẩn trong các mẻ khác nhau để thu được độ thu hồi đối với các chất phân tích liên quan với các khoảng thời gian đều đặn. Tiến hành luân phiên các nghiên cứu về độ thu hồi ở AL cũng như ở LCL và 2 lần AL, khi cần, để khẳng định khả năng áp dụng của phương pháp trong dải phân tích. Tần suất các nghiên cứu về độ thu hồi ở AL cần phải cao hơn từ 2 đến 3 lần khi đó độ thu hồi của chúng sẽ ở các mức khác nhau.</p> <p>Phân tích lặp lại các mẫu dương tính có thể thay cho phép thử độ thu hồi trong một mẻ đặc thù.</p> <p>Đối với MRM, chuẩn bị hỗn hợp chuẩn đặc thù sản phẩm/mẫu từ chất phân tích mà có thể xuất hiện trong một mẫu đặc thù nào đó. Việc lựa chọn chất phân tích cho một hỗn hợp cần bảo đảm quá trình phân tách/phát hiện chọn lọc mà không có bất cứ một khó khăn nào.</p> <p>Đối với việc xác định tạm thời: chuẩn bị các mẻ phân tích có chứa hỗn hợp thử phát hiện thích hợp, và các mẫu.</p> <p>Đối với phép xác định/khẳng định định lượng, đưa vào mẻ phân tích hỗn hợp thử phát hiện, số lượng hỗn hợp hiệu chuẩn thích hợp, mẫu trắng đã bổ sung, hoặc một mẫu dương tính lặp lại và các mẫu dương tính mới.</p> <p>Lần lượt bơm các chất chuẩn và mẫu vào.</p> |

Bảng 4 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Phương pháp định lượng | Tiêu chí Phương pháp sàng lọc | Ý kiến góp ý |
|---|-----|---|---|--|--|
| <p>4.1.4 Tính chọn lọc của quá trình phân tách, tính đặc thù của quá trình phát hiện, tính thực hiện của các detector</p> | | <p>Đưa hỗn hợp thử phát hiện thích hợp vào mỗi mẻ sắc ký. Đưa sản phẩm chưa xử lý (nếu có) vào mẻ phân tích. Dùng chất bổ sung chuẩn có sẵn nếu không có mẫu chưa xử lý (tương tự với các chất được phân tích trong mẻ).</p> <p>Khẳng định tính đồng nhất và định tính của mỗi chất phân tích xuất hiện $\geq 0,7$ AL.</p> | <p>Rs, T, của hợp chất thử, và RRF và δ của quá trình phát hiện cần nằm trong dải quy định. Mức giữ lại tương ứng cần nằm trong khoảng 2 % đối với phép xác định GLC và 5 % đối với phép xác định HPLC. Tính thực hiện của detector cần nằm trong dải qui định.</p> <p>Chất chiết mẫu gây nhiễu chất phân tích có mặt không được $\geq 0,3$ LCL. Độ thu hồi của chất chuẩn bổ sung cần nằm trong dải độ thu hồi chấp nhận được của chất phân tích.</p> | <p>Tính năng thực hiện của một detector cần nằm trong dải quy định. Chất phân tích phải được thấy ở trên LCL hoặc CC đối với các hợp chất đã bị cấm sử dụng.</p> | <p>Đôi khi cũng nên đề cập đến như là một phép thử về "tính phù hợp của hệ thống". Chuẩn bị hỗn hợp thử phát hiện cho mỗi phương pháp phát hiện. Lựa chọn thành phần hỗn hợp để cho thấy được các thông số đặc trưng của sự phân tách và phát hiện sắc ký.</p> <p>Điều chỉnh số liệu RRT đối với các hợp chất của hỗn hợp thử phát hiện và các chất phân tích sử dụng cho quá trình hiệu chuẩn. Xác định RRF đặc thù đối với hệ thống phát hiện.</p> <p>Tiến hành khẳng định định lượng bằng các chất chuẩn phân tích được chuẩn bị trong chất chiết nền trắng nếu hiệu ứng chất nền là đáng kể.</p> |

Bảng 4 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--|---|--|---|---|
| 4.1.5 Tính đồng nhất của chất phân tích trong mẫu đã xử lý | ở mức nồng độ chất phân tích có thể dễ dàng phát hiện | Lựa chọn ngẫu nhiên một mẫu dương tính. Lập lại phép phân tích một hoặc hai phần mẫu phân tích khác. | <p>Phương pháp định lượng</p> <p>Phương pháp sàng lọc</p> <p>Các dư lượng đo được trong hai ngày khác nhau cần nằm trong giới hạn độ tái lập của phần mẫu phân tích lặp lại:</p> $C_{max} - C_{min} \leq 2,8 * CV_{Ltyp} * Q$ <p>Q là dư lượng trung bình thu được từ các phép đo lặp lại, CV_{Ltyp} là độ không đảm bảo kết hợp của việc xử lý mẫu và phân tích mẫu thu được trong khi kiểm tra phương pháp.</p> | <p>Tiến hành thay thế phép thử bao gồm mỗi sản phẩm được phân tích. Thử tính đồng nhất tại thời điểm bắt đầu hong khô, hoặc tại giai đoạn đầu của phép phân tích loại mẫu đã cho.</p> <p>Các kết quả có thể chấp nhận được của phép thử cũng khẳng định rằng độ tái lập của phép phân tích (CV_L) là phù hợp.</p> |
| 4.1.6 Hiệu quả chiết | | | | <p>Hiệu quả của quá trình chiết có thể không được kiểm soát trong khi phân tích. Để đảm bảo hiệu quả chiết thích hợp, cần thực hiện quy trình chiết đã được xác nhận giá trị sử dụng mà không có bất cứ sự thay đổi nào.</p> |
| 4.1.7 Quá trình phân tích | | | <p>Các mẫu, chất chiết,... không được bảo quản lâu hơn so với khoảng thời gian mà theo đó tính ổn định bảo quản đã được thử nghiệm khi xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp. Cần theo dõi các điều kiện bảo quản và ghi chép thường xuyên.</p> | <p>Các ví dụ về việc cần có các phép thử bổ sung tính ổn định khi bảo quản được đưa ra trong Bảng 1.</p> |

Bảng 4 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|---|------------------------|--|--|--|
| <p>4.2 Các chất phân tích được phát hiện không thường xuyên</p> <p>Các phép thử sau được mô tả trong 4.1 với những loại trừ dưới đây:</p> | | | | |
| <p>4.2.1 Độ chính xác và độ chụm</p> | <p>Ở xung quanh AL</p> | <p>Phân tích lại phần mẫu phân tích khác; Sử dụng bổ sung chất chuẩn ở mức chất phân tích đo được</p> | <p>Các dư lượng đo được ở 2 ngày khác nhau cần nằm trong dải tối hạn: $C_{max} - C_{min} \leq 2,8 \cdot CV_{Ltyp}Q$ Q là dư lượng trung bình thu được từ các phép đo lặp lại, CV_{Ltyp} thu được trong quá trình xác nhận giá trị sử dụng phương pháp. Độ thu hồi sau khi bổ sung chất chuẩn phải nằm trong giới hạn tác dụng.</p> | <p>Kiểm tra độ chính xác nếu dư lượng được tìm thấy $\geq 0,5 AL$.</p> |
| <p>4.3 Các phương pháp sử dụng trong khoảng thời gian không đều</p> <p>Các phương pháp thử sau được mô tả trong 4.1 với loại trừ dưới đây:</p> | | | | |
| <p>4.3.1 Độ chính xác và độ chụm (độ lặp lại)</p> | <p>Tại AL và LCL</p> | <p>Đưa một mẫu đã bổ sung tại LCL và hai mẫu tại AL vào mỗi mẻ phân tích. Bổ sung chất chuẩn nếu không có sẵn mẫu chưa được xử lý (tương tự các chất được phân tích trong mẻ). Thực hiện phân tích với ≥ 2 phần mẫu phân tích.</p> | <p>Hai độ thu hồi tối thiểu phải trong giới hạn cảnh báo, một độ thu hồi có thể trong giới hạn tác dụng. Các dư lượng đo được trong các phần mẫu lặp lại cần nằm trong dải tiêu chí: $C_{max} - C_{min} \leq 2,8 \cdot CV_{Ltyp}Q$ hoặc $C_{max} - C_{min} \leq f_{(n)} \cdot CV_{Ltyp}Q$. Q là dư lượng trung bình thu được từ các phép đo lặp lại, CV_{Ltyp} thu được phê chuẩn phương pháp, f_(n) là hệ số để tính dải lớn nhất tùy thuộc vào số lượng mẫu lặp lại.</p> | <p>Các kết quả chấp nhận chứng minh tính phù hợp của hoá chất, chất hấp thụ và thuốc thử được sử dụng. Khẳng định dư lượng trên 0.5 AL. Nếu các tiêu chí thực hiện không được đáp ứng, cần lặp lại phương pháp này và các đặc tính thực hiện của nó (Q, CV_{Atyp}, CV_{Ltyp}) được thiết lập lại trong quá trình xác nhận giá trị sử dụng từng phần của phương pháp.</p> |

Bảng 4 – (tiếp theo)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|--|--|--|--|-----------------------------|---|
| | | | Phương pháp định lượng | Phương pháp sàng lọc | |
| 4.4 Sự thay đổi khi thực hiện phương pháp | | | | | |
| Sự thay đổi | Các thông số được thử nghiệm | | Đối với các phương pháp thử và các tiêu chí có khả năng chấp nhận được Xem phần thích hợp trong Phụ lục 1. | | |
| 4.4.1 Cột sắc ký | Phép thử tính chọn lọc của quá trình phân tách, phân giải, tính trợ, giá trị RRt | | Không được làm ảnh hưởng đến các đặc tính thực hiện | | Sử dụng các hỗn hợp thử thích hợp để thu được thông tin khi thực hiện trên cột |
| 4.4.2 Thiết bị để xử lý mẫu | Tính đồng nhất của mẫu đã được xử lý; Tính ổn định của chất phân tích | | Phép thử được mô tả trong 1.6 và 1.7 phải được thực hiện và chúng phải cho các kết quả phù hợp với các tiêu chí tương ứng... | | Phép thử tính đồng nhất chỉ cần thiết nếu mức độ nghiên và/hoặc trộn thấp hơn với mức của thiết bị gốc. Tính ổn định của chất phân tích cần được kiểm tra nếu thời gian và nhiệt độ xử lý tăng đáng kể. |
| 4.4.3 Thiết bị chiết | So sánh các mức dư lượng bị nhiễm được phát hiện bằng các thiết bị cũ và mới trong ≥ 5 mẫu lặp lại. | | Các dư lượng trung bình không được khác nhau đáng kể ở $p = 0,05$. | | Phép thử là cần thiết nếu sử dụng một loại thiết bị mới. |
| 4.4.4 Phát hiện | Kiểm tra tính chọn lọc của quá trình phân tách và tính chọn lọc và độ nhạy của phép phát hiện | | Các đặc tính thực hiện phải tương tự hoặc được quy định cụ thể hơn khi mô tả phương pháp. | | Phép thử cũng có thể được phát hiện một cách riêng rẽ bằng thuốc thử phát hiện mới |

Bảng 4 – (kết thúc)

| Thông số | Mức | Số phép phân tích hoặc loại phép thử yêu cầu | | Tiêu chí | Ý kiến góp ý |
|------------------------|---|--|---|-----------------------------|--|
| | | | Phương pháp định lượng | Phương pháp sàng lọc | |
| 4.4.5 Người phân tích | ≥ 5 phép thử độ thu hồi ở mỗi mức (LCL, AL và 2 (3) AL); phân tích lại một mẫu trắng và 2 mẫu dương tính (không để người phân tích biết) | | Mọi kết quả phải nằm trong giới hạn cảnh báo được quy định cho phương pháp này trong phòng thử nghiệm. Phân tích các mẫu lặp lại phải trong dải tới hạn. | | Đây là yêu cầu tối thiểu. Các phòng thử nghiệm về lĩnh vực dư lượng sử dụng biên bản chi tiết hơn gồm: (1) Khái quát đường chuẩn trong phạm vi các tiêu chí có khả năng chấp nhận được; (2) tối thiểu 2 đường phân tích cho mỗi chất nền, có các chất phân tích đại diện được bổ sung thêm bởi người phân tích ở tối thiểu 3 mức kép; (3) tối thiểu 1 đường phân tích có các mẫu đã được bổ sung hoặc mẫu đã bị nhiễm, 3 mức kép, miễn sao người phân tích không biết. Mọi kết quả phải thoả mãn các tiêu chí có thể chấp nhận được, hoặc phải được lặp lại. |
| 4.4.6 Phòng thử nghiệm | Độ chính xác và độ chụm ≥ 3 các phép thử độ thu hồi ở mỗi mức (LCL, AL và 2 (3) AL) do những người phân tích khác nhau thực hiện vào những ngày khác nhau. | | Tất cả các kết quả phải nằm trong các giới hạn cảnh báo đã quy định cụ thể cho phương pháp này trong phòng thử nghiệm. | | Độ tái lập của phương pháp trong các điều kiện mới phải được xây dựng và nó phải được tiến hành bởi nhiều người phân tích nếu được. |

Bảng 5 – Các sản phẩm /mẫu đại diện để xác nhận giá trị sử dụng của quy trình phân tích dư lượng thuốc BVTV

| Nhóm sản phẩm | Đặc tính chung | Loại sản phẩm ^{6 a} | Loài đại diện |
|---|--|--|---|
| Các sản phẩm thực vật | | | |
| I. | Hàm lượng nước và chlorophyl cao | Lá rau cải Brassica, Lá rau Rau ngũ cốc | Rau chân vịt hoặc rau diếp, bông cải, bắp cải, cải xoăn, đậu xanh |
| II. | Hàm lượng nước cao và hàm lượng chlorophyl thấp hoặc không có chlorophyl | Quả loại tào Quả có hạt Quả mâm xôi Quả nhỏ Loại quả làm rau Rễ làm rau | Táo, lê Đào, chery (sơ ri) Dâu tây Nho Cà chua, hạt tiêu chuông, nấm melon, Khoai tây, cà rốt, mùi tây |
| III. | Hàm lượng axit cao | Quả họ bưởi | Cam, chanh |
| IV. | Hàm lượng đường cao | | Nho khô, chà là |
| V. | Hàm lượng chất béo hoặc dầu cao | Hạt có dầu Hạnh nhân | Quả bơ, hạt hướng dương, quả óc chó, quả hồ đào pécan, quả hồ trăn |
| VI. | Các nguyên liệu khô | Ngũ cốc | Lúa mì, gạo hoặc hạt ngô |
| | | Các sản phẩm ngũ cốc | Cám lúa mì, bột lúa mì |
| | Các loại hàng hoá cần được thử độc lập | | Ví dụ: tỏi, húp lông, chè, gia vị, quả man việt quất |
| Các sản phẩm có nguồn gốc động vật | | | |
| | | Thịt | Thịt gia cầm, thịt gà |
| | | Nội tạng ăn được | Gan, cật |
| | | Mỡ | mỡ của thịt |
| | | Sữa | Sữa bò |
| | | Trứng | Trứng gà |

CHÚ THÍCH Phương pháp này cần được xác nhận bằng các loại thuốc BVTV đại diện cho mỗi nhóm sản phẩm. Các sản phẩm khó phân tích cần các phép thử riêng.

Bảng 6 – Các ví dụ về phương pháp phát hiện thích hợp để phép phân tích khẳng định các chất

| Phương pháp phát hiện | Tiêu chí |
|-----------------------------|--|
| LC hoặc GC và Phổ khối | nếu số lượng đầy đủ các ion chẩn đoán được theo dõi |
| LC - DAD hoặc đưa qua UV | nếu phổ UV là đặc trưng |
| LC - huỳnh quang | kết hợp với các kỹ thuật khác |
| 2 - D TLC – (quang phổ) | kết hợp với các kỹ thuật khác |
| GC - ECD, NPD, FPD | chỉ khi kết hợp với 2 hoặc nhiều hơn các kỹ thuật phân tách ¹ |
| Dẫn xuất | nếu nó không phải là phương pháp lựa chọn đầu tiên |
| LC - phổ miễn dịch | kết hợp với các kỹ thuật khác |
| LC - UV/VIS (bước sóng đơn) | kết hợp với các kỹ thuật khác |

1. Các hệ thống sắc ký khí khác (áp dụng các pha tĩnh và/hoặc động của tĩnh chọn lọc khác nhau) hoặc các kỹ thuật khác.

Giải thích các thuật ngữ

| | |
|--|--|
| Giới hạn được chấp nhận (AL) [accepted limit (AL)] | Giá trị nồng độ cho một chất phân tích tương ứng với một giới hạn quy định hoặc giá trị hướng dẫn mà tạo nên mục đích của phép phân tích, như MRL, MPL; tiêu chuẩn thương mại, giới hạn nồng độ đạt tới (đánh giá thói quen ăn uống), mức có thể chấp nhận (môi trường)... Đối với một chất không có MRL hoặc với chất bị cấm có thể sẽ không có AL (về mặt hiệu quả nó có thể là zero hoặc có thể không có giới hạn) hoặc nó có thể là nồng độ đạt tới ở trên mà các dư lượng được phát hiện cần được khẳng định (giới hạn tác dụng hoặc giới hạn về hành chính). |
| Độ chính xác (accuracy) | Tính gần nhất giữa giá trị kết quả thử nghiệm và giá trị đối chứng được chấp nhận. |
| Sai số (α) [alpha error] (α) | Khả năng mà nồng độ thực của chất phân tích trong mẫu thử phòng thử nghiệm nhỏ hơn so với giá trị cụ thể (ví dụ AL) khi các phép đo được tiến hành trên một hoặc nhiều phần mẫu thử/phần phân tích cho thấy nồng độ này vượt quá giá trị đó (dương tính giả). Giá trị được chấp nhận đối với tính xác suất này thường nằm trong phạm vi từ 1 % đến 5 %. |
| Chất phân tích (analyte) | Chất hoá học được xác định hoặc phát hiện trong một mẫu. |
| Sự đồng nhất của chất phân tích (trong mẫu) [analyte homogeneity (in sample)] | Sự phân tán đồng đều của chất phân tích trong chất nền. Tính thay đổi trong các kết quả phân tích nảy sinh trong quá trình mẫu tùy thuộc vào kích cỡ của phần mẫu phân tích. Hằng số w lấy mẫu mô tả mối tương quan giữa kích cỡ phần mẫu phân tích và độ biến thiên mong đợi trong mẫu phân tích đã trộn kỹ. $K_w = w (CV_{sp})^2$, trong đó w là khối lượng phần mẫu phân tích và CV_{sp} là hệ số biến thiên của nồng độ chất phân tích trong các phần mẫu phân tích lặp lại của w [g] được lấy ra từ mẫu phân tích. |
| Phần mẫu phân tích (analytical portion) | Một lượng đại diện nguyên liệu lấy từ mẫu phân tích, có kích cỡ thích hợp đối với phép đo nồng độ dư lượng. |
| Mẫu phân tích (analytical sample) | Nguyên liệu được chuẩn bị để phân tích từ mẫu phòng thử nghiệm, bằng việc phân tách phần của sản phẩm sẽ được phân tích và sau đó bằng cách trộn, nghiền, cắt lát nhỏ... để loại bỏ những phần mẫu phân tích với sai số lấy mẫu tối thiểu. |
| Khả năng áp dụng (applicability) | Các chất phân tích, chất nền và các nồng độ mà theo đó một phương pháp phân tích được chứng minh là đáp ứng được. |
| Sai số (β) [Beta (β) error] | Khả năng mà nồng độ thực của chất phân tích trong mẫu phòng thử nghiệm lớn hơn so với giá trị cụ thể (ví dụ AL) khi các phép đo được tiến hành trên một hoặc nhiều phần mẫu phân tích cho thấy nồng độ đó không vượt quá giá trị này (âm tính sai). Giá trị chấp nhận được đối với xác suất này thường trong khoảng 1 % đến 5 %. |
| Độ lệch (bias) | Chênh lệch giữa giá trị trung bình đo được đối với một chất phân tích và một giá trị đối chứng đã được chấp nhận đối với mẫu. Độ lệch là sai số hệ thống tổng thể đối chiếu với sai số ngẫu nhiên. Có thể có một hoặc nhiều thành phần sai số hệ thống góp phần tạo nên độ lệch này. Một sự chênh lệch hệ thống lớn hơn từ giá trị đối chứng đã được chấp nhận sẽ được phản ánh bởi một giá trị sai lệch lớn hơn. |

| | |
|---|--|
| <p>Nhóm hàng hoá (commodity group)</p> | <p>Nhóm thực phẩm hoặc thức ăn chăn nuôi mang các đặc tính hóa học đầy đủ để làm cho chúng tương đương với các mục đích phân tích của theo phương pháp. Các đặc tính này có thể dựa trên các thành phần chính (ví dụ nước, đường, chất béo, và hàm lượng axit) hoặc mối tương quan sinh học và có thể được xác định bằng các quy định.</p> |
| <p>Phương pháp khẳng định (confirmatory)</p> | <p>Phương pháp cung cấp các thông tin đầy đủ hoặc thông tin bổ sung cho phép chất phân tích được xác định với mức độ đảm bảo có thể chấp nhận (ở giới hạn được chấp nhận hoặc mức quan tâm). Càng nhiều càng tốt, phương pháp khẳng định cung cấp các thông tin về đặc tính hoá học của chất phân tích, tốt nhất là sử dụng các kỹ thuật quang phổ. Nếu một kỹ thuật đơn lẻ thiếu tính đặc thù đầy đủ, khi đó sự khẳng định có thể đạt được bằng các quy trình bổ sung gồm sự kết hợp thích hợp của việc làm sạch, phân tách sắc ký và phát hiện chọn lọc. Phân tích sinh học cũng có thể cung cấp một số số liệu khẳng định.</p> <p>Để bổ sung cho việc khẳng định chất phân tích thì nồng độ của nó cũng cần được khẳng định. Điều này cần phải phân tích phần mẫu thứ hai và/hoặc phân tích lại mẫu ban đầu bằng phương pháp thích hợp khác (nghĩa là cột và/hoặc detector khác nhau...Khẳng định định tính và định lượng cũng có thể tiến hành bằng cùng một phương pháp, khi thích hợp.</p> |
| <p>Giới hạn quyết định (CCα) [Decision limit (CCα)]</p> | <p>Giới hạn mà ở đó nó có thể được quyết định là nồng độ của chất phân tích có mặt trong một mẫu thực sự vượt quá giới hạn đó với xác suất sai số của (dương tính sai). Trong trường hợp các chất có AL là 0, CCα ở mức nồng độ thấp nhất, tại đó một phương pháp có thể phân biệt với xác suất thống kê $1 - \alpha$ kể cả khi chất phân tích đã được xác định là có mặt. CCα tương đương với giới hạn phát hiện (LOD) theo một số định nghĩa (thường thì $\alpha = 1\%$).</p> <p>Trong trường hợp các chất có AL đã được thiết lập, CCα ; là nồng độ đo được, mà trên giá trị đó nó có thể được quyết định với một xác suất thống kê của $1 - \alpha$ là hàm lượng chất phân tích đã xác định đúng là trên AL.</p> |
| <p>Khả năng phát hiện (CCβ) [detection capability (CCβ)]</p> | <p>Nồng độ thực nhỏ nhất của chất phân tích có thể bị phát hiện, xác định và định lượng trong một mẫu có sai số beta (âm tính sai). Trong trường hợp các chất bị cấm sử dụng thì CCβ là nồng độ thấp nhất tại đó một phương pháp có thể xác định chất phân tích trong các mẫu đã bị nhiễm với xác suất thống kê của $1 - \beta$. Trong trường hợp các chất có MRL đã được thiết lập, CCβ là nồng độ tại đó phương pháp này có thể áp dụng để phát hiện các mẫu mà vượt quá MRL với xác suất thống kê của $1 - \beta$.</p> <p>Khi áp dụng ở nồng độ có thể phát hiện thấp nhất, thì thông số này được dùng để cung cấp thông tin tương đương với giới hạn định tính (LOQ), tuy nhiên CCβ thường đi kèm với một xác suất thống kê cụ thể về sự phát hiện, do đó tốt nhất lấy ở trên mức LOQ.</p> |
| <p>Hỗn hợp thử phát hiện (detection test mixture)</p> | <p>Hỗn hợp các chất chuẩn phân tích mà thích hợp để kiểm tra các điều kiện phân tách và phát hiện bằng sắc ký. Hỗn hợp thử phát hiện cần có các chất phân tích mà cung cấp được những thông tin về tính chọn lọc và các yếu tố về độ nhạy đối với các detector, và tính trợ (ví dụ đã được đặc trưng hoá bằng cách theo dõi thông số Tf) và lực phân tách (ví dụ sự phân giải Rs) của cột, và độ tái lập của các giá trị RRt. Hỗn hợp thử phát hiện này có thể sẽ cho đi qua cột và detector cụ thể.</p> |
| <p>Kết quả âm tính sai (false negative result)</p> | <p>Xem sai số beta.</p> |

| | |
|---|--|
| Kết quả dương tính sai (false positive result) | Xem sai số alpha. |
| Nhóm phương pháp đặc thù (group specific method) | Phương pháp được thiết kế để phát hiện các chất có cùng cấu trúc hoá học tương tự hoặc các phần như nhau ví dụ như axit axetic phenoxy, dithiocarbamat, metyl carbamat. |
| Dư lượng bị nhiễm (incurred residue) | Các dư lượng của chất phân tích trong chất nền này sinh theo thường lệ mà qua đó tạo ra các mức ở dạng vết như mong muốn, thường trái với các dư lượng do việc tăng cường mẫu phòng thử nghiệm. Nghĩa là dư lượng bị thay đổi. |
| Phương pháp đơn lẻ (individual method) | Phương pháp thích hợp để xác định một hoặc nhiều hợp chất đã định. Có thể cần một phương pháp tách biệt riêng, ví dụ như xác định một số chất trao đổi đưa vào trong phần định nghĩa dư lượng của một loại thuốc BVTV hoặc thuốc thú y riêng. |
| Mẫu phòng thử nghiệm (laboratory sample) | Mẫu được tiếp nhận tại phòng thử nghiệm (không kể bao gói). |
| Giới hạn phát hiện (LD) [limit of detection (LD)] | Nồng độ nhỏ nhất mà ở đó chất phân tích có thể xác định được. Phổ biến được định nghĩa là nồng độ tối thiểu của chất phân tích trong mẫu thử có thể xác định được với một xác suất đã công bố mà chất phân tích đó có mặt ở nồng độ lớn hơn nồng độ trong mẫu trắng. Tiêu chuẩn IUPAC và ISO đã khuyến cáo viết tắt LD. Xem thêm Khả năng quyết định. |
| Giới hạn định lượng (LOQ) [limit of quantitation (LOQ)] | Nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích có thể được định lượng. Phổ biến được xác nhận như nồng độ tối thiểu của chất phân tích trong mẫu thử mà có thể được xác định theo độ chụm có thể chấp nhận (độ lặp lại) và độ chính xác trong những điều kiện đã cho của phép thử. Xem Khả năng phát hiện. |
| Mức hiệu chuẩn thấp nhất (LCL) [lowest calibrated level (LCL)] | Nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích được phát hiện và đo khi hiệu chuẩn hệ thống phát hiện. Nó có thể được biểu thị theo nồng độ dung dịch trong mẫu thử hoặc theo khối lượng và không tính đến sự góp phần từ mẫu trắng. |
| Chất nền (matrix) | Nguyên liệu hoặc hợp chất được lấy mẫu để phục vụ cho các nghiên cứu phân tích, trừ chất phân tích. |
| Chất nền trắng (matrix blank) | Nguyên liệu mẫu có mức chất phân tích liên quan không thể phát hiện được |
| Hiệu chuẩn phù hợp với chất nền (matrix-matched calibration) | Quá trình hiệu chuẩn sử dụng các chất chuẩn được chuẩn bị trong một chất chiết của một sản phẩm được phân tích (hoặc của một sản phẩm đại diện). Mục đích là để bù cho các ảnh hưởng của các chất đồng chiết trên hệ thống xác định. Những ảnh hưởng như vậy thường không thể đoán trước, tuy nhiên chất nền phù hợp có thể là không cần thiết nếu chất đồng chiết chứng minh là không có những ảnh hưởng đáng kể. |
| Phương pháp (method) | Một dãy các quy trình kể từ lúc tiếp nhận mẫu để phân tích cho đến khi tạo ra kết quả cuối cùng. |

| | |
|---|---|
| Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (method validation) | Quá trình kiểm tra và khẳng định phương pháp đó phù hợp với mục đích sử dụng. |
| Phương pháp đa dư lượng, MRM (multi residue method, MRM) | Phương pháp thích hợp để xác nhận và định lượng giới hạn các chất phân tích, thường với một số lượng các chất nền khác nhau. |
| Kết quả âm tính (negative result) | Một kết quả cho thấy chất phân tích không có mặt ở mức hoặc lớn hơn mức hiệu chuẩn thấp nhất (xem Giới hạn phát hiện). |
| Kiểm tra tính năng (performance verification) | Lập các số liệu kiểm tra về chất lượng tạo ra trong khi phân tích các mẻ mẫu để hỗ trợ cho việc xác nhận tính hợp lệ của các phép phân tích đang tiến hành. Số liệu này có thể được sử dụng để cải tiến các thông số về tính năng thực hiện của phương pháp. |
| Kết quả dương tính (positive result) | Một kết quả cho thấy sự có mặt của chất phân tích với nồng độ ở mức hoặc trên mức hiệu chuẩn thấp nhất. |
| Độ chụm (precision) | Sự gần nhất giữa các kết quả thử nghiệm độc lập thu được trong những điều kiện quy định. |
| Phương pháp định lượng (quantitative method) | Một phương pháp có khả năng cho các kết quả, được biểu thị giá trị bằng số lượng với đơn vị thích hợp, với độ chính xác và độ chụm phù hợp với mục đích. Mức độ chụm và độ đúng phải tuân theo các tiêu chí quy định ở Bảng 3. |
| Độ thu hồi (recovery) | Sự phân chia hoặc tỷ lệ chất phân tích thu hồi được sau khi chiết và phân tích mẫu trắng mà theo đó chất phân tích đã được thêm vào với nồng độ đã biết (mẫu đưa vào hoặc nguyên liệu chuẩn). |
| Thuốc thử trắng (reagent blank) | Thực hiện phép phân tích đầy đủ mà không đưa các nguyên liệu mẫu theo mục đích QC. |
| Nguyên liệu chuẩn (reference material) | Một nguyên liệu hoặc nhiều nồng độ chất phân tích của chúng đủ đồng nhất và được thiết lập tốt để đánh giá phương pháp đo, hoặc để đánh giá các nguyên liệu khác. Trong tài liệu này thuật ngữ "nguyên liệu chuẩn" không đề cập đến các nguyên liệu sử dụng để hiệu chuẩn dụng cụ. |
| Phương pháp chuẩn (reference method) | Phương pháp phân tích định lượng về độ tin cậy đã được chứng minh đặc trưng hoá bởi độ đúng, tính đặc trưng, độ chụm và lực phát hiện đã được thiết lập tốt. Những phương pháp này nhìn chung sẽ được nghiên cứu liên phòng thử nghiệm và thường căn cứ vào quang phổ phân tử. Tình trạng phương pháp chuẩn chỉ có hiệu lực nếu phương pháp này được thực hiện trong chế độ QA thích hợp. |
| Quy trình chuẩn (reference procedure) | Quy trình mà tính hiệu quả đã được thiết lập. Nếu không có sẵn nó, thì một quy trình chuẩn có thể là một quy trình, mà về lý thuyết, cần phải có hiệu quả cao và về cơ bản phải khác với quy trình đang trong quá trình thử. |

| | |
|--|--|
| Độ lặp lại (repeatability) | Độ chụm trong những điều kiện lặp lại, nghĩa là các điều kiện mà các kết quả thử độc lập thu được với cùng một phương pháp trên các phần mẫu phân tích giống nhau trong cùng một phòng thử nghiệm tiến hành bởi cùng một người thao tác sử dụng cùng một thiết bị trong một khoảng thời gian ngắn (ISO 3534-1). |
| Chất phân tích đại diện (representative analyte) | Chất phân tích được chọn để đại diện cho một nhóm các chất phân tích mà chúng có các đặc tính tương tự thông qua phương pháp phân tích đa dư lượng, do đã được đánh giá bằng các đặc tính hoá lý của chúng như cấu trúc, độ hoà tan trong nước, tính phân cực, Kow, tính bay hơi, tính ổn định về thủy phân, pKa... |
| Chất phân tích đại diện (representative analytical) | Chất phân tích có các đặc tính hoá lý nằm trong phạm vi các đặc tính của chất phân tích đại diện |
| Độ tái lập (reproducibility) | Sự giống nhau giữa các kết quả thu được theo cùng một phương pháp trên các phần mẫu phân tích giống nhau được tiến hành bởi những người thao tác khác nhau với các thiết bị khác nhau (trong phạm vi độ tái lập phòng thử nghiệm). Tương tự như vậy, khi các phép thử được tiến hành trong các phòng thử nghiệm khác nhau thì sẽ thu được độ tái lập liên phòng thử nghiệm. |
| Sản phẩm đại diện (representative commodity) | Một sản phẩm thực phẩm đơn lẻ hoặc thức ăn sử dụng để đại diện cho một nhóm sản phẩm với mục đích xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp. Một sản phẩm có thể được xem là đại diện dựa trên các thành phần mẫu gần đúng, chẳng hạn như nước, dầu/chất béo, axit, đường và hàm lượng chlorophyll, hoặc các đặc tương tự về sinh học của các mô... |
| Tính nghiêm khắc (ruggedness) | Khả năng của một quá trình đo hoá học để ngăn cản sự thay đổi của kết quả thử khi có các thay đổi nhỏ về quy trình của phương pháp, môi trường, phòng thử nghiệm, con người.... |
| Chuẩn bị mẫu (sample preparation) | Quy trình sử dụng, nếu cần, để chuyển mẫu phòng thử nghiệm thành mẫu phân tích, bằng việc loại bỏ các phần (đất, đá, xương...) mà không được đưa vào trong phép phân tích |
| Xử lý mẫu (sample processing) | Các quy trình (cắt, nghiền, trộn...) sử dụng để làm cho mẫu phân tích trở nên đồng nhất có thể chấp nhận được liên quan đến việc phân phối chất phân tích, trước khi lấy các phần mẫu phân tích. Các yếu tố của quá trình xử lý phải được thiết kế sao cho tránh được các thay đổi trong nồng độ chất phân tích. |
| Phương pháp sàng lọc (screening method) | Một phương pháp sử dụng để phát hiện sự có mặt của một chất phân tích hoặc một nhóm các chất phân tích ở mức hoặc trên mức nồng độ tối thiểu. Nó phải được xây dựng để tránh các kết quả âm tính sai ở mức xác suất đã quy định (nhìn chung, $\beta = 5\%$). Các kết quả định tính dương tính có thể cần phải khẳng định bằng phương pháp chuẩn hoặc phương pháp khẳng định. Xem Giới hạn quyết định và Khả năng phát hiện. |
| Tính chọn lọc (selectivity) | Đo mức mà theo đó chất phân tích chắc chắn sẽ được phân biệt với các thành phần mẫu khác, hoặc bằng việc phân tách (như bằng sắc ký) hoặc bằng độ nhạy tương ứng của hệ thống phát hiện. |

| | |
|---|--|
| Tính đặc trưng (specificity) | Việc mở rộng mà theo đó một phương pháp cung cấp độ nhạy từ hệ thống phát hiện có thể được xem xét loại trừ đặc tính của chất phân tích. |
| Bổ sung chất chuẩn (standard addition) | Một quy trình trong đó lượng chất phân tích đã biết được thêm vào các phần mẫu chất chiết có chứa chất phân tích (nồng độ đo được ban đầu của nó là X), để tạo ra các nồng độ ước lượng mới (ví dụ: 1.5 X và 2 X). Độ nhạy của chất phân tích được tạo ra bởi các phần bằng nhau của mẫu được đưa vào và chất chiết gốc sẽ được đo, và nồng độ chất phân tích trong chất chiết gốc (bổ sung chất phân tích là Zero) được xác định từ độ dốc và đường chặn của đường biểu diễn độ nhạy. Nếu đường biểu diễn thu được không phải là đường tuyến tính, giá trị đối với X phải được giải thích kỹ. |
| Hệ số theo dõi (tailing factor) | Đo pic sắc ký; ở 10 % tối thiểu độ cao của pic, tỉ số phần phân đoạn đầu và cuối của chiều rộng của pic, khi được phân tách bằng các đường thẳng đứng vẽ qua điểm cao nhất của pic. |
| Phần mẫu thử (test portion) | Xem : "Phần phân tích" |
| Mẫu thử (test sample) | Xem "Mẫu phân tích" |
| Độ đúng (trueness) | Độ gần nhất giữa giá trị trung bình thu được từ một dãy lớn các kết quả thử và giá trị chuẩn được chấp nhận. |
| Độ không đảm bảo của phép đo (uncertainty of measurement) | Các thông số đơn lẻ (thường là độ lệch chuẩn hoặc một khoảng tin cậy) biểu thị khoảng giá trị xung quanh kết quả đo, trong đó giá trị thực mong đợi sẽ cùng với mức xác suất đã công bố. Nó cần lưu ý đến tất cả các tác động được công nhận lên kết quả, bao gồm: độ chụm tổng thể dài hạn (trong phạm vi độ tái lập phòng thử nghiệm) của phương pháp đầy đủ; độ lệch của phương pháp; lấy mẫu thay thế và độ không bảo đảm của quá trình hiệu chuẩn, và bất cứ một sự thay đổi nào khác đã biết nào về kết quả. |

Chữ viết tắt

| | | | |
|-------------|---|----------|---|
| C_{max} | Dư lượng lớn nhất phát hiện được trong phần mẫu phân tích kép | MRM | Phương pháp đa dư lượng |
| C_{min} | Dư lượng thấp nhất phát hiện được trong phần mẫu phân tích kép | RRF | Yếu tố độ nhạy tương đối |
| CV_{Atyp} | Hệ số điển hình sự thay đổi dung lượng xác định được trong một phần mẫu phân tích | RRt | Giá trị lưu tương đối đối với Pic |
| CV_{Ltyp} | Hệ số điển hình sự thay đổi phân tích của phần mẫu phòng thử nghiệm | R_s | Quyết định hai pic sắc ký |
| CV_{Sp} | Hệ số số thay đổi dư lượng trong phần mẫu phân tích | SD | Độ lệch chuẩn |
| GLP | Thực hành phòng thử nghiệm tốt | S_{yx} | Độ lệch chuẩn của các dư lượng từ hàm hiệu chuẩn tuyến tính |
| GSM | Phương pháp đặc trưng nhóm | WHO | Tổ chức y tế thế giới |
| MRL | Giới hạn dư lượng tối đa | | |