



VIỆN KIỂM NGHIỆM AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM QUỐC GIA
NATIONAL INSTITUTE FOR FOOD CONTROL

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ĐỘC TỔ GÂY NÔN (CEREULIDE) BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ HAI LẦN (LC-MS/MS)

Trình bày: ThS. Lê Việt Ngân

24/03/2026

MỤC TIÊU HỌC TẬP



Cereulide – Nguồn gốc

Quy định tại Việt Nam và trên thế giới

Một số ca ngộ độc trên thế giới và Việt Nam

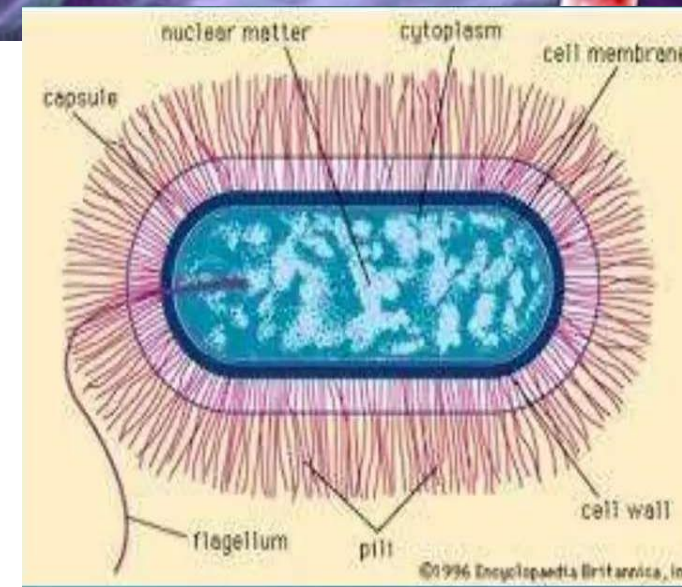
Các phương pháp xác định

Xác định hàm lượng Cereulide bằng phương pháp LC-MS/MS

Bacillus cereus

- Giới: Vi khuẩn; Ngành: Firmicutes; Lớp: Bacilli; Bộ: Bacillales; Họ: Bacillaceae; Chi: *Bacillus*; Loài: *Bacillus cereus*
- Gram dương, hình que, bào tử chịu nhiệt cao (100–121°C)

Nhiệt độ phát triển 5 °C - 50 °C, tối ưu 35 °C - 40 °C



Bacillus cereus



- Hai nhóm độc tố chính:
 - ❖ Diarrheal toxins (Hbl, Nhe, CytK) – gây tiêu chảy
 - ❖ Emetic toxin: **Cereulide** – gây nôn nhanh: **Chứng hiếm mang genes trên plasmid (< 10%)**

- 1950s - 1990s: Báo cáo ngộ độc kiểu nôn (emetic type)/ cốm chiên ở UK. *Bacillus cereus* - nguyên nhân chính (tiêu chảy)
- 1994- 1995: Agata et al. đặt tên cereulide và xác nhận đây là emetic toxin (FEMS Microbiol Lett)
- Cùng năm: Suwan et al. xác định cấu trúc hóa học → cyclic dodecadepsipeptide (J. Chem. Soc.)
- Milestone: Đầu tiên xác định và phân lập độc tố gây nôn của *B. cereus*

- 1998: Bioassay nhạy cảm phát hiện cereulide (Andersson et al.)
- 2002: Phương pháp định lượng LC-MS (Häggblom et al.)
- 2010: Stable isotope dilution assay (SIDA) định lượng chính xác trong thực phẩm (Bauer et al.) → nền tảng cho **ISO 18465:2017**
- 2026: Vụ **ngộ độc toàn cầu** – cereulide trong sữa công thức (nguồn từ dầu ARA bị nhiễm), dẫn đến recall ở 99 quốc gia, >144 ca bệnh (WHO/ECDC/EFSA báo cáo).

Phổ biến của *B. cereus*



Loại thực phẩm	Tỷ lệ (%)	Nguồn
Ngũ cốc/đậu/cơm	41–45	Rahnama et al. 2023
Rau củ	37	Rahnama et al. 2023
Sữa & sản phẩm sữa (dairy)	36	Rahnama et al. 2023; Ibrahim et al. 2022 (dairy powders: 19–36%)
RTE foods (sẵn ăn)	25–35	Rahnama et al. 2023; Luu-Thi et al. 2021
Infant formula (sữa bột trẻ em)	11–42 (tùy nghiên cứu)	Pei et al. 2018 (Trung Quốc: 7.53% ≥ 10 CFU/g); Wang et al. 2022 (Bắc Kinh: 52.9–70.6%)
Tổng trung bình	23.75	Rahnama et al. 2023

Quy định *B. cereus*



- Việt Nam: QCVN 8-3:2012/BYT: *B. cereus* **giả định**: Sản phẩm dinh dưỡng trẻ 0–12 tháng
- Codex **không có giới hạn cứng** cho *B. cereus* trong hầu hết thực phẩm, có đề xuất khuyến nghị $<10^2$ CFU/g cho infant formula.
- EU: Sữa bột trẻ sơ sinh và TP mục đích y tế đặc biệt, trẻ sơ sinh < 6 tháng *B. cereus* **giả định**
- Nhật, FDA: Không có giới hạn cứng cho *B. cereus*

Quy định cereulide



- Codex Alimentarius & hầu hết quốc gia: Chưa có tiêu chuẩn riêng cho cereulide (chỉ hướng dẫn về *Cronobacter/Salmonella* trong sữa bột).
- EFSA Rapid Risk Assessment (2026): Nghiên cứu gần đây nhất → thiết lập ARfD = 0,014 $\mu\text{g/kg}$ thể trọng cho trẻ sơ sinh (dựa trên BMDL10 từ nghiên cứu trên động vật, UF=300 do trẻ em nhạy cảm hơn).
- Ngưỡng rủi ro trong sữa pha: 0,054 $\mu\text{g/L}$ (infant formula) và 0,1 $\mu\text{g/L}$ (follow-on formula) → có thể vượt ARfD khi tiêu thụ cao (260 mL/kg bw/ngày cho infant formula).

- Dữ liệu về liều gây bệnh ở người chủ yếu từ ca bệnh thực tế → **thiếu nghiên cứu dài hạn, NOAEL/LOAEL rõ ràng.**
- Độc tính cấp tính (emesis) được ghi nhận, nhưng dữ liệu phân mảnh từ các mô hình khác nhau (động vật, in vitro, case report).
- Biến thể isocereulides tạo "poisonous cocktail"
- Trước 2026: **ít vụ lớn** → dữ liệu phơi nhiễm thực tế (exposure data) chưa đủ để lập tiêu chuẩn toàn cầu.
- **Kết quả: Không thể xác định "ngưỡng an toàn hài hòa" cho mọi nhóm dân số.**

So sánh hai hội chứng ngộ độc *B. cereus*



Đặc điểm	Emetic type (Cereulide)	Diarrheal type
Thời gian ủ bệnh	0.5–6 giờ (thường 1–5 giờ)	6–15 giờ
Triệu chứng chính	Nôn dữ dội, buồn nôn	Tiêu chảy, đau bụng
Thời gian bệnh	6–24 giờ	12–24 giờ
Thực phẩm liên quan	Cơm nguội, chiên, pasta, mì	Thịt, rau, sốt, món trộn
Độc tố	Pre-formed, bền nhiệt/acid	Enterotoxin, sản xuất trong ruột

Lý do bỏ sót cereulide



- Giống hệt: *Staphylococcus aureus* (enterotoxin), norovirus, rotavirus, rối loạn tiêu hóa.
- "viêm dạ dày ruột do virus" hoặc "ngộ độc không rõ".
- Ở trẻ em: Mất nước nhanh nhưng nhẹ → dễ nhầm với bệnh nhi thông thường.
- Triệu chứng chính: Nôn nhanh (0.5–6 giờ sau ăn), buồn nôn, đôi khi tiêu chảy nhẹ → tự khỏi trong 24 giờ.

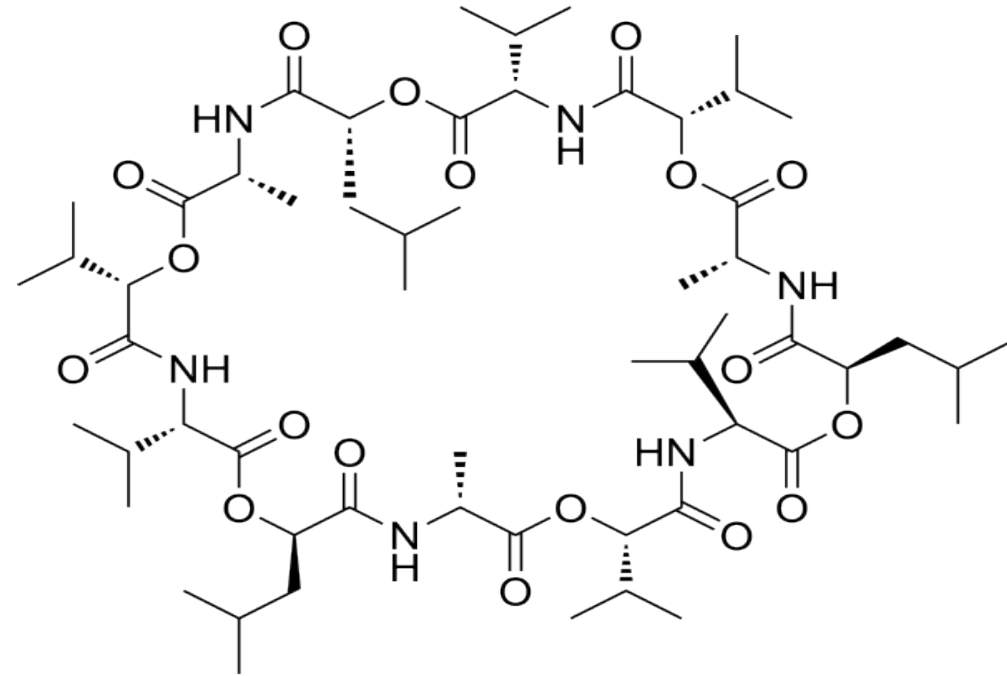
Lý do bỏ sót cereulide



- Xét nghiệm cereulide không phổ biến.
- Cần **LC-MS/MS**, **nội chuẩn** (ISO 18465:2017)
- Mẫu phân (feces) tốt nhất để phát hiện → máu/urine thường âm tính/false negative.
- Phát hiện *B. cereus* sống trong thức ăn **không có** hoặc **không đủ gây ngộ độc** (độc tố pre-formed, vi khuẩn có thể chết).
- Bioassay (HEp-2, boar sperm) lỗi thời, thiếu đặc hiệu.

Cấu trúc của Cereulide

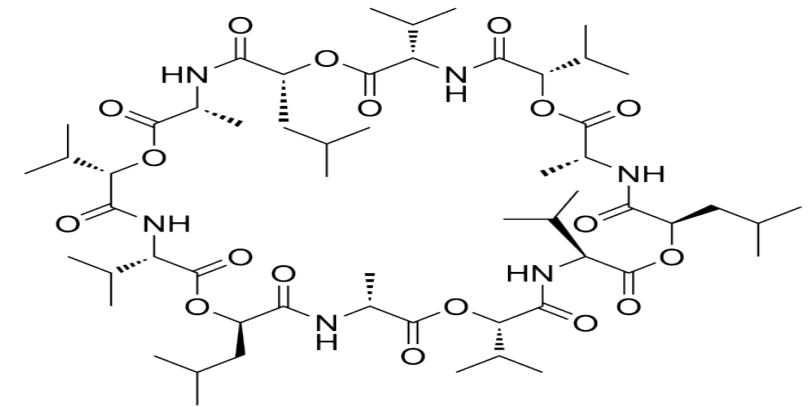
- Peptide vòng (dodecadepsipeptide)
- Sinh tổng hợp bởi NRPS (non-ribosomal peptide synthetase)
- Khối lượng phân tử ~1153 Da
- Log P/Log Kow $\approx$ 5.96–10.2 (rất cao)
- Ưa lipid $\rightarrow$ chiết bằng dung môi hữu cơ



Cấu trúc độc tố cereulide

Vì sao cereulide nguy hiểm?

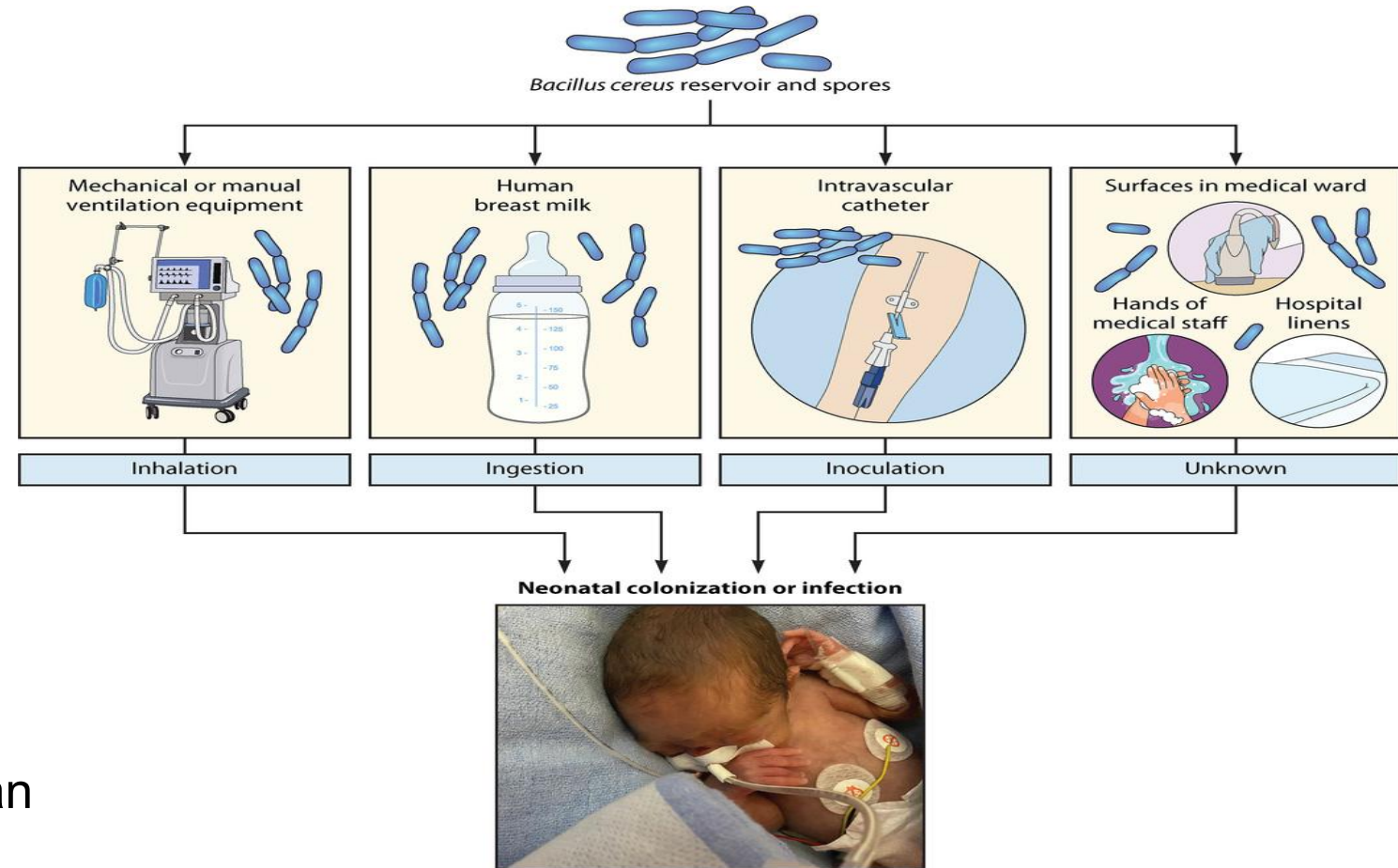
- Bền nhiệt cao (**121°C, > 90 phút**) → nấu chín không phá hủy
- Bền pH (**2-11**) & kháng enzyme → không bị tiêu hóa
- Tác động nhanh lên ti thể
- Có thể gây:
 - ❖ Nôn cấp tính
 - ❖ Suy gan (hiếm nhưng nặng)



Thực phẩm “an toàn vi sinh” vẫn có thể gây ngộ độc do cereulide

Đối tượng nguy hiểm chính

- Thời gian ủ bệnh ngắn **0,5–5 giờ**
- Buồn nôn và nôn dữ dội, ít khi kèm tiêu chảy
- Có thể **tự khỏi** sau một thời gian ngắn
- Có ghi nhận biến chứng nặng: **Suy gan cấp, viêm tụy, rối loạn thần kinh và tử vong**
- Tác động đến gan, cơ tim, tụy và hệ thần kinh đặc biệt nhạy cảm với Cereulide



Các con đường lây truyền *Bacillus cereus* trong môi trường bệnh viện và nguy cơ đối với trẻ sơ sinh.

Một số ca ngộ độc trên thế giới và Việt Nam



Năm	Quốc gia	Thực phẩm	Số ca	Hàm lượng cereulide	Kết quả	Nguồn
2008	Nhật Bản	Cơm chiên	1 trẻ em	Không báo cáo	Tử vong	Pediatrics (2010)
2012	Việt Nam	Sữa chua/phở	29 trẻ em	Không báo cáo	Ngộ độc cấp tính	Tuổi trẻ
2020	Việt Nam	Thực phẩm chay	230 người	Không báo cáo	Ngộ độc cấp tính	Tuổi trẻ
2022	Việt Nam	Cánh gà/nước mắm	600 trẻ em	Không báo cáo	1 tử vong	Vnexpress
2022	Bỉ	Cơm	Nhiều ca	Cơm: 12.22 µg/g	Ngộ độc cấp tính	MDPI (Foods 2022)
2023	Bỉ	Cơm chiên	1 (20 tuổi)	Không báo cáo	Tử vong	ASIAE
2025–2026	Châu Âu	Sữa công thức	≥36 ca	Đang điều tra, hàm lượng thấp	Thu hồi toàn cầu	EFSA

- Nhiều case: Không có số liệu vì chưa phân tích LC-MS/MS tại thời điểm đó
- Một số nghiên cứu cũ: Chỉ ghi nhận *Bacillus cereus* chứ chưa định lượng độc tố

Các phương pháp xác định



Độ
nhạy
tăng
dần

- HPLC-ELSD
- Biological assay
- LC-MS, MALDI-TOF MS
- LC-HRMS
- LC-MS/MS (ISO/EN (ISO 18465:2017))
- Xác định *B.cereus*: PCR, MALDI-TOF MS, Biological assay

Ưu điểm của phương pháp LC-MS/MS



- LC-MS/MS: “**Tiêu chuẩn vàng**”: Độ nhạy cực cao, độ đặc hiệu phân tích tốt trên nhiều nền mẫu phức tạp (sữa công thức, cơm chiên, mô động vật,)
- Cơ chế xác thực kép:
 - Kết hợp định danh và định lượng đồng thời
 - Dựa trên: thời gian lưu + ion mẹ + ion con đặc trưng
- Sự công nhận quốc tế:
 - **Được lựa chọn trong các tiêu chuẩn ISO/EN (ISO 18465:2017)**
 - Ứng dụng rộng trong giám sát an toàn thực phẩm



VIỆN KIỂM NGHIỆM AN TOÀN VỆ SINH THỰC PHẨM QUỐC GIA
NATIONAL INSTITUTE FOR FOOD CONTROL

**Xác định hàm lượng độc tố gây nôn
(Cereulide) bằng phương pháp sắc
ký lỏng hai lần khối phổ (LC-MS/MS)**

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CEREULIDE BẰNG LC-MS/MS

Phạm vi áp dụng

- Thực phẩm



- Thực phẩm bổ sung



- TP dinh dưỡng y học



- TP đặc biệt



Chiết Xuất Mẫu

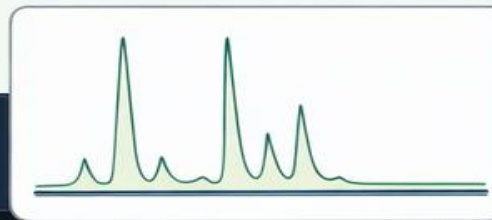
Acetonitril
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide
(Chất nội chuẩn)



Chiết & Lắc

Phân Tích & Định Lượng

UPLC



Tách thành phần

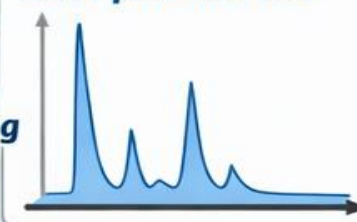
LC-MS/MS



Phân tích & Định lượng

ESI (+)

Khối phổ hai lần

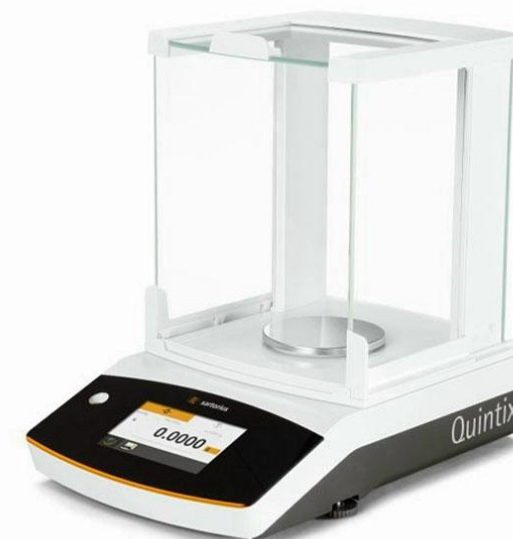


Kết quả

Hàm lượng Cereulide



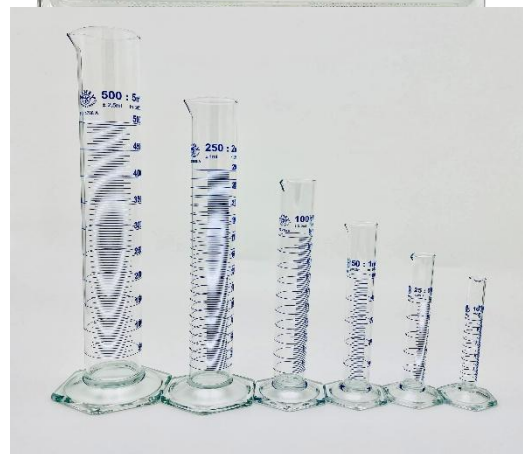
Thiết bị



Dụng cụ



参考画像



Hóa chất

- Acetonitril (Merck)
- Acid formic (Merck)
- Amoni format (Merck)
- Nước deion

Chất chuẩn

- Dung dịch chuẩn Cereulide 50 $\mu\text{g/mL}$ trong Acetonitril (Hãng Chiralix, code CX20422)
- Dung dịch nội chuẩn (IS) $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 20 $\mu\text{g/mL}$ trong Acetonitril (Hãng Chiralix, code CX87778)

Chuẩn bị pha động, chuẩn



- Pha động A: Dung dịch Ammonium format 10mM và Acid formic 0,1%: Cân 0,63 gam muối Ammonium format, hòa tan và chuyển vào bình 1 L bằng 900 mL nước. Sau đó, cho thêm 1 mL Acid formic, định mức đến vạch 1 L bằng nước, lắc đều. Lọc qua màng 0,45 μm , rung siêu âm khoảng 5 phút
- Pha động B: Dung dịch Acid formic 0,1 % trong Acetonitril: Thêm 900 mL Acetonitril vào bình 1 L. Hút 1 mL Acid formic, sau đó định mức đến vạch 1 L bằng Acetonitril, lắc đều. Rung siêu âm khoảng 5 phút.

Chuẩn bị pha động, chuẩn



Dung dịch chuẩn trung gian Cereulide nồng độ 10 ng/mL

- Lấy chính xác 10 μ L dung dịch chuẩn gốc Cereulide bằng micropipet chuyển vào bình định mức 50 mL, pha loãng và định mức bằng Acetonitril ở nhiệt độ phòng, lắc kỹ. Các dung dịch chuẩn gốc bảo quản đông.

Dung dịch nội chuẩn (IS) trung gian $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide nồng độ 100 ng/mL

- Lấy chính xác 0,25 mL dung dịch nội chuẩn gốc $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide bằng micropipet cho vào bình định mức 50 mL, pha loãng tới vạch mức bằng Acetonitril ở nhiệt độ phòng và lắc kỹ.

Dung dịch nội chuẩn (IS) làm việc $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide nồng độ 10 ng/mL

- Lấy chính xác 1 mL dung dịch nội chuẩn trung gian $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide bằng micropipet cho vào bình định mức 10 mL, pha loãng tới vạch mức bằng Acetonitril ở nhiệt độ phòng và lắc kỹ.

Dung dịch chuẩn làm việc



Chuẩn	Chuẩn trung gian 10 ng/mL (μL)	Acetonitril μL	IS làm việc 10 ng/mL(μL)	Nồng độ cuối cùng (ng/mL)
Chuẩn 0	0	1000	200	0,00
Chuẩn 1	10	990	200	0,08
Chuẩn 2	50	950	200	0,4
Chuẩn 3	100	900	200	0,8
Chuẩn 4	200	800	200	1,7
Chuẩn 5	500	500	200	4,2
Chuẩn 6	1000	0	200	8,3

Nồng độ nội chuẩn $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide trong đường chuẩn này là 1,7 ppb.

Quy trình xử lý mẫu



Đồng nhất
mẫu

Cân chính
xác khoảng
2,5 g mẫu
đã đồng
nhất vào
ống ly tâm
50 mL

Hút 0,5 mL
dung dịch
nội chuẩn
trung gian
 $^{13}\text{C}_6^-$
Cereulide
100 ppb

Đóng nắp
lại, lắc
vortex và
cho ống
ngủ 30
phút

Thêm 29,5
mL
Acetonitril,
đóng nắp
lại

Lắc ở máy
lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở
3000 - 4500
vòng/phút
trong 10
phút

Lọc qua
màng 0,2
 μm

Phân tích
bằng LC-
MS/MS

Quy trình xử lý mẫu

Đồng nhất mẫu:

- Thực phẩm công thức: Hoàn nguyên 5 g mẫu + 40 mL nước 37 °C,
- Mẫu sữa lỏng: Blank / spike: 0,1 mL chuẩn 1,67 ppb

*** Cách pha chuẩn:**
Một muỗng gạt ngang (10,8 g) **Abbott GROW[®]1+** (muỗng có sẵn trong hộp) pha với 60 ml nước, hoặc 157 g bột pha với nước để được 1 lít.

Số lần đề nghị sử dụng: Tuổi từ 12-24 tháng⁽⁴⁾

180 ml + 3 ly mỗi ngày

Theo sự tư vấn cụ thể từ bác sĩ về số lần sử dụng cho trẻ của bạn. Những hướng dẫn này chỉ mang tính đề nghị, mỗi bé cần sử dụng khác nhau.
(4) Trẻ ở độ tuổi này nên bổ sung các loại thức ăn đặc khác.

Đồng nhất mẫu

Cân chính xác khoảng 2,5 g mẫu đã đồng nhất vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch nội chuẩn trung gian $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

Đóng nắp lại, lắc vortex và cho ống nghỉ 30 phút

Thêm 29,5 mL Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500 vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,2 μm

Phân tích bằng LC-MS/MS

Quy trình xử lý mẫu



Nội chuẩn đồng vị (chính xác 0,5mL IS)

- Giống chất phân tích
- Thêm từ đầu quy trình
- Loại bỏ ảnh hưởng nền (matrix effect) => loại bỏ sai số
- Tránh âm tính giả / kết quả sai lệch

Đồng nhất
mẫu

Cân chính xác khoảng
2,5 g mẫu đã đồng nhất
vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch
nội chuẩn trung gian
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

Đóng nắp lại, lắc vortex
và cho ống nghỉ 30 phút

Thêm 29,5 mL
Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500
vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,2 μm

Phân tích bằng LC-
MS/MS

Quy trình xử lý mẫu



Tại sao phải lắc đều và chờ 30 phút

- Phân bố đều trong toàn bộ mẫu
- “gắn” vào nền mẫu giống analyte
- Nếu không chờ:
- Nội chuẩn chưa tương tác đủ → **không phản ánh đúng quá trình chiết**

Đồng nhất
mẫu

Cân chính xác khoảng
2,5 g mẫu đã đồng nhất
vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch
nội chuẩn trung gian
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

**Đóng nắp lại, lắc vortex
và cho ống nghỉ 30 phút**

Thêm 29,5 mL
Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500
vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,2 μm

Phân tích bằng LC-
MS/MS

Quy trình xử lý mẫu



Dung môi sử dụng: 29,5mL ACN

- Chiết được chất phân tích, hiệu suất chiết tốt trên các nền khác nhau
- Giảm tạp, giảm ảnh hưởng nền mẫu (protein, carb, lipid)
- Tương thích tốt với LC-MS/MS

Đồng nhất
mẫu

Cân chính xác khoảng
2,5 g mẫu đã đồng nhất
vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch
nội chuẩn trung gian
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

Đóng nắp lại, lắc vortex
và cho ống nghỉ 30 phút

Thêm 29,5 mL
Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500
vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,2 μm

Phân tích bằng LC-
MS/MS

Quy trình xử lý mẫu



Lắc ngang: Cần thiết bị cố định được ống chiết

- Thấm đều dung môi – tăng hiệu suất chiết
- Giảm sai số chiết không hoàn toàn

Đồng nhất
mẫu

Cân chính xác khoảng
2,5 g mẫu đã đồng nhất
vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch
nội chuẩn trung gian
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

Đóng nắp lại, lắc vortex
và cho ống nghỉ 30 phút

Thêm 29,5 mL
Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500
vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,2 μm

Phân tích bằng LC-
MS/MS

Quy trình xử lý mẫu



Ly tâm:

- Tách pha lỏng và pha rắn
- Giảm tạp cho giai đoạn tiếp theo
- Giảm sai số chiết không hoàn toàn

Đồng nhất
mẫu

Cân chính xác khoảng
2,5 g mẫu đã đồng nhất
vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch
nội chuẩn trung gian
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

Đóng nắp lại, lắc vortex
và cho ống nghỉ 30 phút

Thêm 29,5 mL
Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500
vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,2 μm

Phân tích bằng LC-
MS/MS

Quy trình xử lý mẫu



Ý nghĩa màng lọc

- Loại bỏ tạp rắn – giảm ảnh hưởng nền
- Bảo vệ thiết bị

Lựa chọn màng lọc:

- Mẫu dung dịch nước/phân cực (CA, PES)
- Dung môi hữu cơ/không phân cực màng kỵ nước (PTFE, Nylon)

Chọn kích thước lỗ: 0,22 μm (vi khuẩn)
hoặc 0,45 μm (hạt cặn)

Đồng nhất
mẫu

Cân chính xác khoảng
2,5 g mẫu đã đồng nhất
vào ống ly tâm 50 mL

Hút 0,5 mL dung dịch
nội chuẩn trung gian
 $^{13}\text{C}_6$ -Cereulide 100 ppb

Đóng nắp lại, lắc vortex
và cho ống nghỉ 30 phút

Thêm 29,5 mL
Acetonitril, đóng nắp lại

Lắc ở máy lắc ngang
trong 1 giờ

Ly tâm ở 3000 - 4500
vòng/phút trong 10 phút

Lọc qua màng 0,22 μm

Phân tích bằng LC-
MS/MS

Điều kiện thiết bị



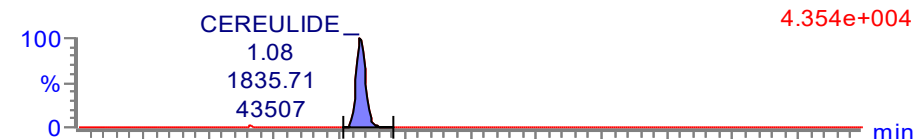
Điều kiện LC

- Cột sắc ký C18 (50 mm x 2,1 mm x 1,7 μm) hoặc cột tương đương
- Pha động: Pha động A : Pha động B (tỷ lệ 5: 95)
- Tốc độ dòng: 0,8 mL/phút
- Thể tích tiêm: 10 μL

Điều kiện MS/MS

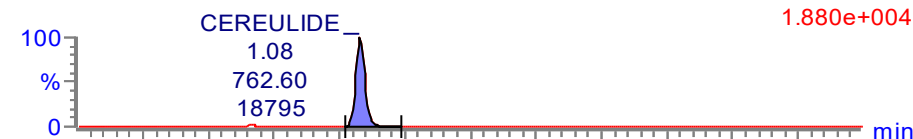
	Mảnh mẹ m/z; CV	Mảnh con 1; CE	Mảnh con 2; CE
Cereulide	1170 ;40	314 ;70	499; 60
IS – Cerulide	1176 ;40	172; 78	315; 68

20260127-spl-202 Smooth(Mn,1x2)
std3



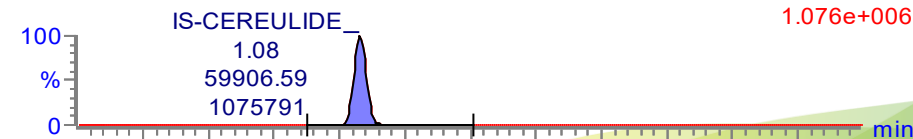
MRM of 4 channels,ES+
1170.6 > 314.2
4.354e+004

20260127-spl-202 Smooth(Mn,1x2)
std3



MRM of 4 channels,ES+
1170.6 > 499.5
1.880e+004

20260127-spl-202 Smooth(Mn,2x3)
std3



MRM of 4 channels,ES+
1176.6 > 172.1
1.076e+006

- Căn cứ vào tỷ lệ tín hiệu chuẩn trên IS và nồng độ, căn cứ vào diện tích pic mẫu tính kết quả theo công thức sau.

$$X (\mu\text{g /kg; } \mu\text{g/L}) = (V \times C_m)/m$$

- Trong đó:
- V: thể tích dịch chiết cuối cùng chạy máy LC (mL)
 - C_m: nồng độ dung dịch chiết mẫu tính theo đường chuẩn (ng/mL).
 - m: Khối lượng của mẫu phân tích (g; mL)
 - X: hàm lượng Cereulide trong mẫu thử (μg/kg, μg/L).

Thẩm định

- Tỷ lệ tín hiệu LOD: Tín hiệu chuẩn cao khoảng 3 lần tín hiệu đường nền ($S/N \sim 3$)
- Tỷ lệ tín hiệu LOQ: Tín hiệu chuẩn cao khoảng 6 lần tín hiệu đường nền ($S/N \sim 6$)

Kiểm soát phương pháp



- S/N phải đạt yêu cầu LOD-LOQ

Tỷ lệ ion	Tiêu chí chấp nhận
> 50%	$\pm 20\%$
> 20% – 50%	$\pm 25\%$
> 10% – 20%	$\pm 30\%$
< 10%	$\pm 50\%$

- Thời gian lưu: $\pm 2,5\%$ so với chuẩn
- Mạnh định tính Std 1 (8,3 ppb): $S/N \geq 6$

- $R \geq 0,995$
- Tiêm lại Std 6 mỗi 10 mẫu.
Kiểm soát độ giảm tín hiệu chuẩn (<10%)
- Tìm nguyên nhân/Phân tích lại nếu không đạt



Thank you for listening!

Chia nhóm thực hành



- Chia 2 nhóm thực hành
- Nhóm 1: Người hướng dẫn Lê Việt Ngân
- Nhóm 2: Người hướng dẫn Vương Quỳnh Hoa
- Mẫu phân tích: Thực phẩm công thức dạng bột (chứa Cereulide) và sữa dạng lỏng (cần thêm chuẩn)
- Hoàn nguyên mẫu và cân mẫu tại phòng 602 tầng 6
- Xử lý mẫu tại phòng 512 (tầng 5) và phân tích LC-MS/MS tại phòng 505 (nhóm 1) và phòng 506 (nhóm 2)

Timeline



Ngày	Buổi sáng	Buổi chiều
25/3	Lý thuyết	• Cài đặt điều kiện LC-MS/MS • Thực hành pha chế hóa chất • Chuẩn bị đường chuẩn • Phân tích LC-MS/MS đường chuẩn • Xử lý số liệu đường chuẩn
26/3	• Thực hành xử lý mẫu nền thực phẩm công thức dạng bột • Phân tích trên thiết bị	• Xử lý số liệu nền thực phẩm công thức dạng bột • Thực hành xử lý mẫu nền sữa lỏng • Phân tích trên thiết bị
27/3	• Xử lý số liệu nền sữa lỏng • Giải đáp thắc mắc	• Làm bài kiểm tra, giải đáp thắc mắc • Trao chứng nhận