TCVN TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9954 : 2013

Xuất bản lần 1

PHỤ GIA THỰC PHẨM – CHẤT TẠO MÀU - CARAMEL

Food additives – Colours – Caramenl

HÀ NỘI - 2013

Lời nói đầu

TCVN 9954:2013 được xây dựng dựa trên cơ sở JECFA Monograph 11 (2011), *Compendium of Food Additive Specifications*;

TCVN 9954:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F4 *Gia vị và phụ gia thực phẩm* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Phụ gia thực phẩm - Chất tạo màu - Caramel

Food additives - Colours - Caramenl

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này áp dụng cho các chất tạo màu caramel được sử dụng làm phụ gia thực phẩm.

CHÚ THÍCH: Lượng ăn vào hàng ngày chấp nhận được (ADI) của caramel:

- Nhóm I: không quy định;
- Nhóm II: từ 0 mg/kg đến 160 mg/kg thể trọng;
- Nhóm III: từ 0 mg/kg đến 200 mg/kg thể trọng (từ 0 mg/kg đến 150 mg/kg thể trọng tính theo chất khô);
- Nhóm IV: từ 0 mg/kg đến 200 mg/kg thể trọng (từ 0 mg/kg đến 150 mg/kg thể trọng tính theo chất khô).

2 Tài liệu viện dẫn

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

TCVN 6469:2010, *Phụ gia thực phẩm – Phương pháp đánh giá ngoại quan và xác định các chỉ tiêu vật lý*

TCVN 6470:2010, *Phụ gia thực phẩm – Phương pháp thử đối với các chất tạo màu*

TCVN 8900-3:2012, *Phụ gia thực phẩm – Xác định các thành phần vô cơ – Phần 3: Hàm lượng nitơ (Phương pháp Kjeldahl)*

TCVN 8900-6:2012, *Phụ gia thực phẩm – Xác định các thành phần vô cơ – Phần 6: Định lượng antimon, bari, cadimi, crom, đồng, chì và kẽm bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử ngọn lửa*

TCVN 8900-8:2012, *Phụ gia thực phẩm – Xác định các thành phần vô cơ – Phần 8: Định lượng chì và cadimi bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử dùng lò graphit*

TCVN 8900-9:2012, *Phụ gia thực phẩm – Xác định các thành phần vô cơ – Phần 9: Định lượng asen và antimon bằng đo phổ hấp thụ nguyên tử hydrua hóa*

3 Mô tả

3.1 Hỗn hợp các hợp chất, một số hợp chất trong số đó là muối aggregat dạng keo, được chế biến bằng cách gia nhiệt các hợp chất carbohydrat riêng rẽ hoặc các hợp chất carbohydrat với sự có mặt của axit, kiềm hoặc muối thực phẩm; được phân loại dựa trên tác nhân phản ứng sử dụng trong quá trình sản xuất.

- Nhóm I: được chế biến bằng cách gia nhiệt các hợp chất carbohydrat, có hoặc không có axit hoặc kiềm; không sử dụng các hợp chất amoni hoặc sulfit.
- Nhóm II: được chế biến bằng cách gia nhiệt các hợp chất carbohydrat, có hoặc không có axit hoặc kiềm, với sự có mặt của các hợp chất sulfit; không sử dụng các hợp chất amoni.
- Nhóm III: được chế biến bằng cách gia nhiệt các hợp chất carbohydrat, có hoặc không có axit hoặc kiềm, với sự có mặt của các hợp chất amoni; không sử dụng các hợp chất sulfit.
- Nhóm IV: được chế biến bằng cách gia nhiệt các hợp chất carbohydrat, có hoặc không có axit hoặc kiềm, với sự có mặt của các hợp chất amoni và các hợp chất sulfit.

Nguyên liệu carbohydrat là các chất tạo ngọt có dinh dưỡng sử dụng cho thực phẩm, bao gồm glucose, fructose và/hoặc các polyme của chúng. Các axit là axit sulfuric hoặc axit citric dùng cho thực phẩm, các chất kiềm là natri hydroxit, kali hydroxit hoặc canxi hydroxit, hoặc hỗn hợp của chúng.

Các hợp chất amoni được sử dụng là một trong các hợp chất sau: amoni hydroxit, amoni carbonat và amoni hydro carbonat, amoni phosphat, amoni sulfat, amoni sulfit và amoni hydro sulfit.

Các hợp chất sulfit được sử dụng là một trong các hợp chất sau: axit sulfurơ, các muối kali, natri và amoni của sulfit và hydro sulfit.

Trong quá trình sản xuất, có thể sử dụng các chất chống tạo bọt dùng cho thực phẩm để làm chất hỗ trợ chế biến.

3.2 Phân loại

Caramel được chia thành bốn loại:

- Nhóm I:caramel nguyên chất (không xử lí bằng sulfit hoặc amoniac);
- Nhóm II: caramel sulfit;

- Nhóm III: caramel amoniac;
- Nhóm IV: caramel amoniac sulfit.

3.3 Kí hiệu

INS (mã số quốc tế về phụ gia thực phẩm):

- Nhóm I: 150a;
- Nhóm II: 150b;
- Nhóm III: 150c;
- Nhóm IV: 150d.

4 Các yêu cầu

4.1 Ngoại quan

Dạng rắn hoặc dạng lỏng, màu nâu sẫm đến đen, có mùi đường cháy.

4.2 Độ hòa tan

Có thể hòa trộn trong nước.

4.3 Nhận biết các chất màu

Đạt yêu cầu của phép thử quy định trong 5.2.

4.4 Phân loại

- Nhóm I: không lớn hơn 50 % chất màu liên kết với celulose DEAE và không lớn hơn 50 % chất màu liên kết với celulose phosphoryl.
- Nhóm II: hơn 50 % chất màu liên kết với celulose DEAE và tỉ số độ hấp thụ lớn hơn 50.
- Nhóm III: không lớn hơn 50 % chất màu liên kết với celulose DEAE và hơn 50 % chất màu liên kết với celulose phosphoryl.
- Nhóm IV: hơn 50 % chất màu liên kết với celulose DEAE và tỉ số độ hấp thụ không lớn hơn 50.

4.5 Các chỉ tiêu lí - hóa

Các chỉ tiêu lí - hóa của caramel theo quy định trong Bảng 1.

Bảng 1 – Chỉ tiêu lí - hóa của caramel

Tên chỉ tiêu	Mức yêu cầu			
	Nhóm I	Nhóm II	Nhóm III	Nhóm IV
1. Hàm lượng chất khô, % khối lượng	62 ÷ 77	65 ÷ 72	53 ÷ 83	40 ÷ 75
2. Cường độ màu	0,01 ÷ 0,12	0,06 ÷ 0,10	0,08 ÷ 0,36	0,10 ÷ 0,60
3. Hàm lượng nitơ tổng số, % khối lượng tính theo chất khô	không lớn hơn 0,1	không lớn hơn 0,2	1,3 ÷ 6,8	0,5 ÷ 7,5
4. Hàm lượng lưu huỳnh tổng số, % khối lượng tính theo chất khô	không lớn hơn 0,3	1,3 ÷ 2,5	không lớn hơn 0,3	1,4 ÷ 10,0
5. Hàm lượng lưu huỳnh dioxit, % khối lượng tính theo chất khô	–	không lớn hơn 0,2	–	không lớn hơn 0,5
6. Hàm lượng nitơ amoniac, % khối lượng tính theo chất khô	–	–	không lớn hơn 0,4	không lớn hơn 2,8
7. Hàm lượng 4-metylimidazole (MEI)				
- tính theo tổng khối lượng chất khô, mg/kg	–	–	không lớn hơn 300	không lớn hơn 1000
- tính theo khối lượng chất màu tương đương, mg/kg	–	–	không lớn hơn 200	không lớn hơn 250
8. Hàm lượng 2-axetyl-4-tetrahydroxy-butylimidazole (THI)				
- tính theo tổng khối lượng chất khô, mg/kg	–	–	không lớn hơn 40	–
- tính theo khối lượng chất màu tương đương, mg/kg	–	–	không lớn hơn 25	–
9. Hàm lượng asen, mg/kg, không lớn hơn	1			
10. Hàm lượng chì, mg/kg, không lớn hơn	2			

5 Phương pháp thử

5.1 Xác định độ hòa tan, theo 3.7 trong TCVN 6469:2010.

5.2 Nhận biết các chất màu, theo 3.2 trong TCVN 6470:2010.

5.3 Xác định hàm lượng chất màu liên kết với celulose DEAE

5.3.1 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.3.1.1 Celulose DEAE (dietylaminoetyl), có dung lượng 0,7 meq/g, ví dụ: Cellex D của Bio-Rad hoặc loại celulose DEAE tương đương có dung lượng cao hơn hoặc thấp hơn với tỉ lệ sử dụng tương ứng.

5.3.1.2 Dung dịch axit clohydric, 0,025 N.

5.3.2 Thiết bị, dụng cụ

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

5.3.2.1 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.3.2.2 Pipet.

5.3.2.3 Bình định mức, dung tích 100 ml.

5.3.2.4 Máy ly tâm hoặc **bộ lọc**.

5.3.2.5 Thiết bị đo quang phổ, có thể đo ở bước sóng 560 nm.

5.3.2.6 Cuvet, chiều dài đường quang 1 cm.

5.3.3 Cách tiến hành

Chuẩn bị dung dịch mẫu thử caramel có độ hấp thụ xấp xỉ 0,5 tại bước sóng 560 nm bằng cách cho một lượng mẫu thử caramel thích hợp vào bình định mức 100 ml (5.3.2.3), cùng với dung dịch axit clohydric 0,025 N (5.3.1.2). Thêm dung dịch axit clohydric 0,025 N đến vạch và nếu dung dịch vẫn đục thì ly tâm hoặc lọc.

Lấy 20 ml dung dịch mẫu thử, thêm 200 mg celulose DEAE (5.3.1.1), trộn kỹ trong vài phút. Ly tâm hoặc lọc và thu lấy lớp dung dịch trong phía trên.

Xác định độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử và lớp dung dịch phía trên sau khi xử lí với celulose DEAE trong cuvet 1 cm (5.3.2.6) ở bước sóng 560 nm, bằng máy đo quang phổ (5.3.2.5) thích hợp, ngay trước đó đã chuẩn hóa với mẫu trắng là dung dịch axit clohydric 0,025 N (5.3.1.2).

5.3.4 Tính kết quả

Hàm lượng chất màu liên kết với celulose DEAE, X_{CD}, biểu thị theo phần trăm độ hấp thụ của dung dịch caramel giảm đi ở bước sóng 560 nm sau khi xử lí bằng celulose DEAE, tính theo công thức:

$$X_{CD} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử ở bước sóng 560 nm;

A_2 là độ hấp thụ của lớp dung dịch phía trên sau khi xử lí với celulose DEAE, đo ở 560 nm.

5.4 Xác định hàm lượng chất màu liên kết với celulose phosphoryl

5.4.1 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.4.1.1 Celulose phosphoryl, có dung lượng 0,85 meq/g, ví dụ: Cellex P của Bio-Rad hoặc loại celulose phosphoryl tương đương có dung lượng cao hơn hoặc thấp hơn với tỉ lệ sử dụng tương ứng.

5.4.1.2 Dung dịch axit clohydric, 0,025 N.

5.4.2 Thiết bị, dụng cụ

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

5.4.2.1 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.4.2.2 Pipet.

5.4.2.3 Bình định mức, dung tích 100 ml.

5.4.2.4 Máy ly tâm hoặc **bộ lọc**.

5.4.2.5 Thiết bị đo quang phổ, có thể đo ở bước sóng 560 nm.

5.4.2.6 Cuvet, chiều dài đường quang 1 cm.

5.4.3 Cách tiến hành

Cân từ 200 mg đến 300 mg mẫu thử caramel, cho vào bình định mức 100 ml (5.4.2.3), thêm dung dịch axit clohydric 0,025 N (5.4.1.2) đến vạch và nếu dung dịch vẫn đục thì ly tâm hoặc lọc.

Lấy 40 ml dung dịch mẫu thử, thêm 2,0 g celulose phosphoryl (5.4.1.1), lắc kỹ trong vài phút. Ly tâm hoặc lọc và thu lấy lớp dung dịch trong phía trên.

Xác định độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử và lớp dung dịch phía trên sau khi xử lí với celulose phosphoryl trong cuvet 1 cm (5.4.2.6) ở bước sóng 560 nm, bằng máy đo quang phổ thích hợp (5.4.2.5), ngay trước đó đã chuẩn hóa với mẫu trắng là dung dịch axit clohydric 0,025 N (5.4.1.2).

5.4.4 Tính kết quả

Hàm lượng chất màu liên kết với celulose phosphoryl, X_{CP}, biểu thị theo phần trăm độ hấp thụ của dung dịch caramel giảm đi ở bước sóng 560 nm sau khi xử lí bằng celulose phosphoryl, tính theo công thức:

$$X_{CP} = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử ở bước sóng 560 nm;

A_2 là độ hấp thụ của lớp dung dịch phía trên sau khi xử lí với celulose phosphoryl, đo ở 560 nm.

5.5 Xác định tỉ số độ hấp thụ

5.5.1 Thiết bị, dụng cụ

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

5.5.1.1 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.5.1.2 Pipet.

5.5.1.3 Bình định mức, dung tích 100 ml.

5.5.1.4 Máy ly tâm hoặc **bộ lọc.**

5.5.1.5 Thiết bị đo quang phổ, có bộ đơn sắc hóa cho độ rộng dải không lớn hơn 2 nm và tỷ lệ ánh sáng lạc không lớn hơn 0,5 %, có thể đo ở bước sóng 280 nm và 560 nm.

5.5.1.6 Cuvet, chiều dài đường quang 1 cm.

5.5.2 Cách tiến hành

Cân khoảng 100 mg mẫu thử caramel, cho vào bình định mức 100 ml (5.5.1.3) cùng với nước, thêm nước đến vạch, trộn đều và nếu dung dịch vẫn đục thì ly tâm, thu được dung dịch mẫu thử 0,1 %.

Dùng pipet (5.5.1.2) lấy 5,0 ml dung dịch mẫu thử 0,1 % cho vào bình định mức 100 ml (5.5.1.3), thêm nước đến vạch và trộn, thu được dung dịch mẫu thử 0,005 %.

Xác định độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử 0,1 % trong cuvet 1 cm (5.5.1.6) ở bước sóng 560 nm và độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử 0,005 % ở bước sóng 280 nm, bằng máy đo quang phổ (5.5.1.5) thích hợp, ngay trước đó đã chuẩn hóa với mẫu trắng là nước.

5.5.3 Tính kết quả

Tỉ số độ hấp thụ, X_{AR}, được biểu thị bằng tỉ số giữa độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử 0,005 % ở 280 nm so với độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử 0,1 % ở 560 nm, tính theo công thức:

$$X_{AR} = \frac{A_{280}}{A_{560}} \times 20$$

Trong đó:

A_{280} là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử 0,005 % ở bước sóng 280 nm;

A_{560} là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử 0,1 % ở bước sóng 560 nm;

20 là hệ số pha loãng.

5.6 Xác định hàm lượng chất khô

5.6.1 Nguyên tắc

Hàm lượng chất khô của mẫu thử caramel được xác định bằng cách sấy mẫu thử với chất mang là cát thạch anh tinh khiết.

5.6.2 Vật liệu thử

5.6.2.1 Cát thạch anh tinh khiết, lọt qua rây số 40 nhưng không qua được rây số 60, được chuẩn bị bằng cách rửa với axit clohydric, rửa hết axit, sấy và nung.

5.6.3 Thiết bị, dụng cụ

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

5.6.3.1 Cân, có thể cân chính xác đến 1 mg.

5.6.3.2 Máy sấy, có thể hoạt động ở nhiệt độ 60 °C.

5.6.4 Cách tiến hành

Cân 30,0 g cát đã chuẩn bị (5.6.2.1), chính xác đến 1 mg, trộn với khoảng 1,5 g đến 2,0 g mẫu thử được cân chính xác đến 1 mg. Sấy hỗn hợp đến khối lượng không đổi ở 60 °C dưới áp suất giảm 50 mmHg (6,7 kPa). Ghi khối lượng cuối cùng của hỗn hợp caramel và cát.

5.6.5 Tính kết quả

Hàm lượng chất khô, X_S, biểu thị bằng phần trăm khối lượng, tính theo công thức:

$$X_S = \frac{w_F - w_S}{w_C} \times 100$$

Trong đó:

w_F là khối lượng cuối cùng của hỗn hợp caramel và cát, tính bằng gam (g);

w_S là khối lượng cát, tính bằng gam (g);

w_C là khối lượng ban đầu của mẫu thử, tính bằng gam (g).

CHÚ THÍCH: Hàm lượng nitơ tổng số, lưu huỳnh tổng số, nitơ amoni, lưu huỳnh dioxit, 4-MEI và THI được biểu thị theo chất khô. Hàm lượng của các chỉ tiêu nêu trên, C_S, tính theo chất khô, biểu thị bằng phần trăm khối lượng (hoặc bằng miligam trên kilogam), được tính theo công thức:

$$C_S = \frac{C_I}{X_S} \times 100$$

Trong đó:

C_I là hàm lượng các chỉ tiêu tính theo tổng khối lượng mẫu, tính bằng phần trăm (hoặc bằng miligam trên kilogam);

X_S là hàm lượng chất khô của mẫu thử, tính bằng phần trăm.

5.7 Xác định cường độ màu

5.7.1 Thiết bị, dụng cụ

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

5.7.1.1 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.7.1.2 Pipet.

5.7.1.3 Bình định mức, dung tích 100 ml.

5.7.1.4 Máy ly tâm.

5.7.1.5 Thiết bị đo quang phổ, có thể đo ở bước sóng 610 nm.

5.7.1.6 Cuvet, chiều dài đường quang 1 cm.

5.7.2 Cách tiến hành

Cân 100 mg mẫu thử caramel, cho vào bình định mức 100 ml (5.7.1.3), thêm nước đến vạch, trộn và nếu dung dịch vẩn đục thì ly tâm.

Xác định độ hấp thụ (A_{610}) của dung dịch này trong cuvet 1 cm (5.7.1.6) ở bước sóng 610 nm bằng máy đo quang phổ (5.7.1.5) thích hợp, ngay trước đó đã chuẩn hóa với mẫu trắng là nước.

5.7.3 Tính kết quả

Cường độ màu của caramel, X_{CI}, biểu thị theo độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử trong nước nồng độ 0,1 % (phần khối lượng chất khô/thể tích nước) ở 610 nm trong cuvet 1 cm, tính theo công thức:

$$X_{CI} = \frac{A_{610}}{X_S} \times 100$$

Trong đó:

A_{610} là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử ở bước sóng 610 nm;

X_S là hàm lượng chất khô trong mẫu thử, biểu thị bằng % khối lượng, tính được theo 5.6.

CHÚ THÍCH: Hàm lượng 4-MEI và THI có thể được biểu thị theo chất màu tương đương. Hàm lượng 4-MEI hoặc THI, X_{ECB}, biểu thị bằng miligam trên kilogam chất màu tương đương, được tính theo công thức:

$$X_{ECB} = \frac{C_S}{X_{CI}} \times 0{,}1$$

Trong đó:

C_S là hàm lượng 4-MEI hoặc THI tính theo chất khô, tính bằng miligam trên kilogam, theo Chú thích của 5.6.4;

X_{CI} là cường độ màu của caramel.

5.8 Xác định hàm lượng nitơ, theo TCVN 8900-3:2012.

5.9 Xác định hàm lượng lưu huỳnh tổng số

5.9.1 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.9.1.1 Magie oxit (MgO).

5.9.1.2 Magie nitrat ngậm sáu phân tử nước [$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$].

5.9.1.3 Sacarose, dạng bột.

5.9.1.4 Axit nitric (HNO_3), đặc.

5.9.1.5 Dung dịch axit clohydric, loãng

Chuẩn bị dung dịch này từ axit clohydric đặc (khoảng 36 % khối lượng/thể tích) và nước theo tỉ lệ thể tích 1 : 2,5.

5.9.1.6 Dung dịch bari clorua ngậm hai phân tử nước ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$), 10 % (khối lượng/thể tích).

5.9.2 Thiết bị, dụng cụ

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

5.9.2.1 Cân, có thể cân chính xác đến 1 mg.

5.9.2.2 Pipet.

5.9.2.3 Chén nung.

5.9.2.4 Lò nung điện, có thể hoạt động ở nhiệt độ 25 °C.

5.9.2.5 Nồi cách thủy.

5.9.3 Cách tiến hành

Lấy một chén nung (5.9.2.3) lớn nhất có thể cho vừa lò nung điện (5.9.2.4), cho vào chén từ 1 g đến 3 g magie oxit (5.9.1.1) hoặc từ 6,4 g đến 19,2 g magie nitrat ngậm sáu phân tử nước (5.9.1.2), 1 g sacarose dạng bột (5.9.1.3) và 50 ml axit nitric đặc (5.9.1.4). Thêm từ 5 g đến 10 g mẫu thử. Cho cùng một lượng thuốc thử vào một chén khác để làm mẫu trắng.

Cô hỗn hợp trên nồi cách thủy (5.9.2.5) đang sôi đến khi thành dạng sệt. Đặt chén vào lò nung nguội (25 °C) và gia nhiệt từ từ đến khi toàn bộ khói nitơ dioxit (NO_2) bay hết. Để nguội, hòa tan và trung hòa bằng dung dịch axit clohydric (5.9.1.5), thêm dư 5 ml. Lọc, đun nóng đến sôi và thêm từng giọt dung dịch bari clorua ngậm hai phân tử nước (5.9.1.6), tổng thể tích thêm vào là 5 ml.

Cô tiếp đến khi còn 100 ml, để yên qua đêm sau đó lọc, rửa, nung và cân kết tủa bari sulfat ($BaSO_4$) thu được.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng các dụng cụ thương mại dùng để phân tích lưu huỳnh tổng số như thiết bị phân tích theo quy trình đốt cháy Leco/chuẩn độ và nên dùng lượng mẫu thử khoảng 200 mg.

5.9.4 Tính kết quả

Hàm lượng lưu huỳnh tổng số, X_{TS}, biểu thị theo số miligam lưu huỳnh (S) trên 100 g mẫu thử, tính theo công thức:

$$X_{TS} = \frac{w_{BS} - w_0}{w_C} \times \frac{M_S}{M_{BS}} \times 100$$

Trong đó:

w_{BS} là khối lượng bari sulfat thu được từ mẫu thử, tính bằng miligam (mg);

w_0 là khối lượng bari sulfat thu được từ mẫu trắng, tính bằng miligam (mg);

M_S là khối lượng mol của lưu huỳnh, tính bằng gam trên mol (M_S = 32,06 g/mol);

M_{BS} là khối lượng mol của bari sulfat, tính bằng gam trên mol (M_S = 233,43 g/mol);

w_C là khối lượng ban đầu của mẫu thử, tính bằng gam (g).

5.10 Xác định hàm lượng lưu huỳnh dioxit

5.10.1 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.10.1.1 Pyrogalol (axit pyrogalic).

5.10.1.2 Khí nitơ.

5.10.1.3 Kali hydroxit.

5.10.1.4 Dung dịch hydro peroxit, 3 %.

5.10.1.5 Dung dịch đỏ metyl trong etanol, 1 %.

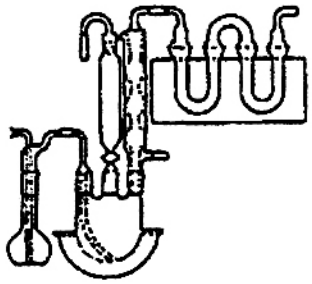
5.10.1.6 Dung dịch axit clohydric, 4 N.

5.10.1.7 Dung dịch natri hydroxit, 0,1 N.

5.10.2 Thiết bị, dụng cụ

5.10.2.1 Thiết bị Monier-Williams cải tiến (ví dụ của 5GA Scientific, Inc., Bloomfield, N.J., Hoa Kỳ) hoặc dụng cụ thiết kế như Hình 1.

Bộ dụng cụ gồm một bình cất đáy tròn ba cổ, dung tích 1 000 ml, có ống nối thủy tinh vuốt thon chuẩn 24/40. Gắn kèm một sinh hàn Allihn 30 cm hồi lưu ở một cổ phía ngoài của bình, đầu kia của sinh hàn nối với một ống Tygon hoặc silicon ¼ inch (6,35 mm) (được đun sôi trước với dung dịch axit clohydric 1 : 20 và rửa bằng nước) đến bộ ống hấp thụ (có nối hình cầu 35/20 hoặc tương đương). Nối cổ giữa của bình với bình gạn hình trụ 125 ml và gắn một đoạn ống đến ống chữ U ngắn cắm qua một nắp cao su trên cổ của bình gạn. Lắp vào cổ phía ngoài khác của bình một ống vào bằng thủy tinh, cong, dài đến gần đáy bình và nối đầu ra của ống với bình rửa khí 250 ml. Bình rửa khí nối với chai (bơm khí) nitơ qua một ống nối.



Hình 1 – Thiết bị xác định axit sulfurơ

Kiểm tra thiết bị như sau:

Nghiền 4,5 g pyrogalol (5.10.1.1) với 5 ml nước trong một cối nhỏ và cho khối nhão thu được sang bình rửa khí. Tiếp tục nghiền phần còn lại và chuyển định lượng sang bình rửa khí, làm hai lần, mỗi lần 5 ml nước. Cho khí nitơ (5.10.1.2) đi từ chai khí đến bình để đuổi hết không khí, sau đó thêm vào bình qua phễu cuống dài khoảng 85 ml dung dịch chứa 65 g kali hydroxit (5.10.1.3) đã được làm nguội. Lắp đầu bình vào và sục nitơ qua đó để đuổi hết không khí khỏi không gian phía trên. Kẹp chặt ống ở cả hai vị trí của chai và nối nó đến ống đầu vào của bình cất. Bình rửa khí phải được chuẩn bị như mô tả, với dung dịch pyrogalol mới pha trong ngày.

Thêm lần lượt vào mỗi ống hấp thụ hình chữ U như sau: hai đũa thủy tinh 8 mm chiều dài khoảng 25 mm, 10 ml hạt thủy tinh 3 mm ở đầu ra, 10,0 ml dung dịch hydro peroxit 3 % (5.10.1.4) và một giọt thuốc thử đỏ metyl (5.10.1.5).

Lắp tất cả các phần của thiết bị. Kiểm tra độ kín bằng cách thổi nhẹ vào trong ống gắn với cổ bình gạn. Khi thổi, đóng khóa bình gạn. Để yên vài phút, nếu mức chất lỏng trong ống chữ U vẫn ngang bằng thì đóng tất cả các khớp nối và thử lại. Nếu hệ thống khít thì tiến hành theo 5.10.3.

5.10.2.2 Cân, có thể cân chính xác đến 1 mg.

5.10.2.3 Pipet.

5.10.2.4 Buret.

5.10.3 Cách tiến hành

Cân khoảng 25 g mẫu thử, chính xác đến 1 mg, phân tán trong 300 ml nước vừa đun sôi để nguội và dùng nước để chuyển khối nhão thu được sang bình (5.10.2.1) qua một phễu lỗ rộng. Pha loãng đến khoảng 400 ml bằng nước và khóa bình gạn lại. Thêm 90 ml dung dịch axit clohydric 4 N (5.10.1.6) vào bình gạn và cho axit vào bình bằng cách thổi nhẹ vào ống ở cổ bình gạn. Khóa bình gạn. Mở kẹp ống ở cả hai vị trí của bình rửa khí và bắt đầu thổi khí nitơ với tốc độ đều đặn bọt khí. Đun nóng bình cất để tạo hồi lưu trong khoảng 20 min. Khi đạt được sự hồi lưu ổn định, đun hồi lưu tiếp trong 1,75 h. Tắt nước trong sinh hàn và tiếp tục đun đến khi khớp nối phía đầu vào của ống chữ U thứ nhất xuất hiện hơi ngưng đọng và hơi ẩm. Tháo bình gạn và tắt bếp.

Khi khớp nối đầu trên của sinh hàn nguội, tháo khớp nối và tráng vào ống chữ U thứ hai, để lại ống nối với khớp ra của ống chữ U thứ nhất nhưng tháo khỏi đầu vào của ống chữ U thứ hai. Quay ống nối đến khi đầu hở của nó gần chạm đầu vào của ống chữ U thứ nhất. Thêm một giọt thuốc thử đỏ metyl (5.10.1.5) vào ống chữ U thứ nhất và chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxit 0,1 N (5.10.1.7) đến khi có màu vàng sáng, lắc nhẹ. Sau khi chuẩn độ ống chữ U thứ nhất, tháo ống nối, lắp nó với ống chữ U thứ hai ở đầu ra và chuẩn độ tương tự. Ghi lại tổng thể tích dung dịch sau hai lần chuẩn độ.

Tiến hành làm một mẫu trắng và ghi lại thể tích dung dịch natri hydroxit 0,1 N đã dùng.

5.10.4 Tính kết quả

Hàm lượng lưu huỳnh dioxit trong mẫu thử, X_{SD}, biểu thị theo phần trăm khối lượng, tính theo công thức:

$$X_{SD} = \frac{(V_S - V_B) \times 0{,}0032}{w} \times 100$$

Trong đó:

V_S là thể tích dung dịch natri hydroxit 0,1 N đã dùng để chuẩn độ đối với mẫu thử, tính bằng mililit (ml);

V_B là thể tích dung dịch natri hydroxit 0,1 N đã dùng để chuẩn độ đối với mẫu trắng, tính bằng mililit (ml);

0,0032 là số gam SO_2 tương ứng với 1 ml dung dịch natri hydroxit 0,1 N;

w là khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam (g).

5.11 Xác định hàm lượng nitơ amoniac

5.11.1 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.11.1.1 Dung dịch axit sulfuric, 0,1 N.

5.11.1.2 Magie oxit (không chứa carbonat).

5.11.1.3 Dung dịch đỏ metyl trong etanol, 0,5 %.

5.11.1.4 Dung dịch natri hydroxit, 0,1 N.

5.11.1.5 Đá bọt.

5.11.2 Thiết bị, dụng cụ

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

5.11.2.1 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.11.2.2 Bình thủy tinh, dung tích 500 ml.

5.11.2.3 Thiết bị cất, gồm bình Kjeldahl cổ dài 800 ml, ống nối bầu và một sinh hàn.

5.11.2.4 Pipet.

5.11.2.5 Buret.

5.11.3 Cách tiến hành

Chuyển 25 ml dung dịch axit sulfuric 0,1 N (5.11.1.1) vào bình hứng 500 ml (5.11.2.2) và lắp với thiết bị cất (5.11.2.3) sao cho đầu ra của sinh hàn ngập phía dưới bề mặt dung dịch trong bình hứng.

Cân khoảng 2 g mẫu thử, chính xác đến 0,1 mg, cho vào bình Kjeldahl cổ dài 800 ml và thêm vào bình 2 g magie oxit (5.11.1.2), 200 ml nước cùng vài viên đá bọt (5.11.1.5). Lắc bình để trộn đều hỗn hợp trong bình và lắp nhanh bình với thiết bị cất. Đun nóng bình đến sôi, thu lấy khoảng 100 ml dịch cất vào bình hứng. Rửa đầu ra của ống sinh hàn bằng vài mililit nước, cho dịch rửa vào bình hứng, sau đó thêm 4 hoặc 5 giọt chỉ thị đỏ metyl (5.11.1.3) và chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxit 0,1 N (5.11.1.4).

Tiến hành làm một mẫu trắng và ghi lại thể tích dung dịch natri hydroxit 0,1 N đã dùng.

5.11.4 Tính kết quả

Hàm lượng nitơ amoniac trong mẫu thử, X_N, biểu thị theo phần trăm khối lượng, tính theo công thức:

$$X_N = \frac{(V_B - V_S) \times 0{,}0014}{w} \times 100$$

Trong đó:

V_S là thể tích dung dịch natri hydroxit 0,1 N đã dùng để chuẩn độ đối với mẫu thử, tính bằng mililit (ml);

V_B là thể tích dung dịch natri hydroxit 0,1 N đã dùng để chuẩn độ đối với mẫu trắng, tính bằng mililit (ml);

0,0014 là số gam nitơ amoniac tương ứng với 1 ml dung dịch natri hydroxit 0,1 N;

w là khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam (g).

5.12 Xác định hàm lượng 4-metylimidazol (4-MEI)

5.12.1 Thuốc thử và vật liệu thử

Thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương.

5.12.1.1 Dung dịch natri hydroxit, 3,0 N.

5.12.1.2 Metylen clorua.

5.12.1.3 Axeton.

5.12.1.4 Tetrahydrofuran.

5.12.1.5 Natri hydroxit.

5.12.1.6 Dung dịch chuẩn nội 2-metylimidazo (2-MEI)

Hòa tan 50,0 mg 2-MEI trong 50,0 ml metylen clorua.

5.12.1.7 Chất trợ lọc, Celit 545 hoặc tương đương.

5.12.1.8 Bông thủy tinh, loại Pyrex hoặc tương đương.

5.12.2 Dụng cụ, thiết bị

5.12.2.1 Cột sắc ký, kích thước 22 mm × 300 mm, có khoá PTFE (ví dụ: Kimax 17800).

5.12.2.2 Cốc polypropylen, dung tích 150 ml (ví dụ: Nalge 1201).

5.12.2.3 Bình đáy tròn, dung tích 250 ml (ví dụ: Pyrex 4320).

5.12.2.4 Phễu rót bột 75 mm.

5.12.2.5 Thìa gạt, kích thước 5 cm.

5.12.2.6 Máy cất quay chân không.

5.12.2.7 Bếp điện.

5.12.2.8 Nồi cách thủy.

5.12.2.9 Pipet Pasteur dùng một lần.

5.12.2.10 Bình định mức, dung tích 5 ml.

5.12.2.11 Cân, có thể cân chính xác đến 1 mg.

5.12.2.12 Hệ thống sắc kí khí-lỏng (GLC), gồm thiết bị sắc ký khí với detector ngọn lửa hydro và cột thủy tinh dài 1 m, đường kính ngoài 6 mm (đường kính trong 4 mm), được nhồi bằng hỗn hợp dung dịch Carbowax 20M nồng độ 7,5 % và kali hydroxit 2 % trên cột Anakrom ABS 90/100 mesh.

5.12.3 Cách tiến hành

5.12.3.1 Chiết mẫu

Sau khi trộn kỹ mẫu thử bằng cách lắc hoặc khuấy, cân 10,00 g phần mẫu thử vào cốc polypropylen 150 ml (5.12.2.2).

CHÚ THÍCH: Polypropylen được coi là tốt hơn thủy tinh vì bề mặt kị nước dễ chuyển hết lượng mẫu thử.

Thêm vào cốc 5,0 g dung dịch natri hydroxit 3,0 N (5.12.1.1) và lắc kỹ để đảm bảo pH của mẫu thử lớn hơn 12. Thêm 20 g Celit 545 (5.12.1.1) vào cốc trên và trộn đều đến khi hỗn hợp gần khô lại. Quá trình này thường mất khoảng 2 min đến 3 min. Với mẫu thử có hàm lượng nước quá cao, hỗn hợp mẫu thử và Celit 545 có thể quá ướt. Trong trường hợp này, trộn 5,00 g phần mẫu thử với 2,5 g dung dịch natri hydroxit 3,0 N và 15 g Celit 545.

Đặt nút bông thủy tinh Pyrex (5.12.1.8) ở phía dưới cột sắc kí 22 mm × 300 mm (5.12.2.1) có khoá. Cho hỗn hợp phần mẫu thử và Celit 545 vào cột qua phễu 75 mm (5.12.2.4). Hỗn hợp trong cột được

nhồi bằng cách gõ nhẹ cột theo phương thẳng đứng khoảng 10 cm trên một bề mặt có lót. Khi nhồi tốt, hỗn hợp phần mẫu thử và Celit 545 phải chiếm xấp xỉ 250 mm phía dưới cột. Cẩn thận khi tiến hành để tránh nhồi lỏng quá hoặc chặt quá. Nếu cột nhồi lỏng quá thì metylen clorua sẽ rửa giải quá nhanh và không chiết hoàn toàn. Nếu cột nhồi quá chặt thì dung môi rửa giải khó tiếp cận một số vùng chất nhồi, điều này cũng dẫn đến việc chiết không hoàn toàn.

Mở khóa, dùng cốc rót dung môi metylen clorua (5.12.1.2) vào cột. Khi dung môi đến nút bông thủy tinh, đóng khoá và để dung môi tương tác với hỗn hợp trong cột 5 min. Sau đó mở khóa và rửa giải tiếp bằng metylen clorua đến khi thu được 200 ml vào bình đáy tròn 250 ml (5.12.2.3). Lấy 1,00 ml dung dịch chuẩn nội 2-MEI (5.12.1.6) thêm vào dịch rửa giải đã thu được. 2-MEI được tách tốt khỏi 4-MEI trong điều kiện sắc kí khí lỏng đã dùng và không thấy có trong caramel.

Sau đó, loại dung môi khỏi dịch rửa giải bằng cất quay với áp suất giảm ở khoảng 45 kPa đến 50 kPa và bình cầu đáy tròn được duy trì ở 35 °C trong nồi cách thủy. Rửa bình cầu nhiều lần, mỗi lần với một lượng nhỏ (khoảng 0,75 ml) tetrahydrofuran (5.12.1.4) hoặc axeton (5.12.1.3) để chuyển hoàn toàn cặn của dịch chiết sang bình định mức 5 ml (5.12.2.10), sử dụng pipet Pasteur dùng một lần (5.12.2.9).

CHÚ THÍCH: Cả hai dung môi tetrahydrofuran và axeton được dùng cho kết quả như nhau.

Sau khi trộn kĩ hỗn hợp bằng cách lắc ngược bình nhiều lần, được dịch chiết dùng cho phân tích GLC. Dịch chiết sau khi chuẩn bị phải phân tích càng sớm càng tốt vì mẫu chỉ ổn định trong vòng 1 ngày sau khi chuẩn bị.

5.12.3.2 Phân tích bằng sắc kí khí-lỏng (GLC)

Phân tích GLC trên thiết bị sắc ký khí với detector ngọn lửa hydro.

Các thông số GLC như sau:

- tốc độ dòng khí mang: nitơ 50 ml/min; hydro 50 ml/min; oxy 80 ml/min;
- nhiệt độ bộ tiêm mẫu: 200 °C;
- nhiệt độ cột đẳng nhiệt: 180 °C;
- nhiệt độ detector: 250 °C;
- thể tích bơm mẫu: 5 µl.

Tiến hành định lượng dùng kĩ thuật nội chuẩn.

5.13 Xác định hàm lượng 2-axetyl-4-tetrahydroxy- butylimidazol (THI)

5.13.1 Nguyên tắc

THI được chuyển thành dẫn xuất 2,4-dinitrophenylhydrazon (THI-DNPH). Dẫn xuất này được tách khỏi thuốc thử dư và các chất nhiễm bẩn dạng carbonyl bằng HPLC dùng cột RP-8, được xác định bằng đo độ hấp thụ ở bước sóng 385 nm.

5.13.2 Thuốc thử và vật liệu thử

Tất cả thuốc thử sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương.

5.13.2.1 Thuốc thử 2,4,-dinitrophenylhydrazin hydroclorua, chuẩn bị như sau:

Cân 5 g 2,4-dinitrophenylhydrazin thương mại cho vào 10 ml axit clohydric đặc đựng trong bình nón 100 ml và lắc nhẹ đến khi bazơ tự do (màu đỏ) chuyển thành dạng hydroclorua (màu vàng). Thêm vào đó 100 ml etanol và đun nóng hỗn hợp trên nồi cách thủy sôi đến khi tất cả chất rắn hòa tan. Sau khi 2,4-dinitrophenylhydrazin hydroclorua kết tinh ở nhiệt độ phòng thì lọc, rửa bằng ete, để khô ở nhiệt độ phòng và bảo quản trong bình hút ẩm. Trong khi bảo quản, 2,4-dinitrophenylhydrazin hydroclorua dần chuyển thành dạng bazơ tự do. Có thể loại dạng bazơ tự do bằng cách rửa với dimetoxyetan.

Thuốc thử được chuẩn bị bằng cách trộn 0,5 g 2,4-dinitrophenylhydrazin hydroclorua với 15 ml metanol trong dimetoxyetan 5 %, trong thời gian 30 min. Bảo quản trong tủ lạnh và kiểm tra định kỳ bằng HPLC.

5.13.2.2 Metanol, không chứa carbonyl tự do.[1)]

5.13.2.3 Dimetoxyetan

Nếu không tinh khiết, dimetoxyetan được tinh chế bằng cách cất từ 2,4-dinitrophenylhydrazin trong môi trường và cất lại từ natri hydroxit.

Ngay trước khi sử dụng cho qua cột nhôm trung tính để loại peroxit.

5.13.2.4 Dung dịch axit clohydric (HCl), 0,5 N.

5.13.2.5 Dung dịch axit phosphoric (H_3PO_4), 0,1 M.

5.13.2.6 Dung dịch chuẩn hiệu chuẩn

Hòa tan THI-DNPH trong metanol (5.13.2.2) đến nồng độ khoảng 100 mg/l, tương ứng với nồng độ của THI là 47,58 ng/µl.

[1)] Metanol có thể được chuẩn bị theo Y. Peleg và C.H. Mannheim, J. Agr. Fd. Chem, 18 (1970) 176, bằng cách xử lý với thuốc thử Girard P.

Pha loãng dung dịch thu được 10 lần bằng metanol (5.13.2.2) đến nồng độ THI khoảng 4,7 ng/µl. Dung dịch chuẩn THI-DNPH ổn định ít nhất 20 tuần nếu bảo quản trong tủ lạnh.

5.13.2.7 Nhựa trao đổi cation (mạnh), ví dụ Dowex 50 AG x 8, H^+, từ 100 mesh đến 200 mesh, hoặc loại tương đương.

5.13.2.8 Nhựa trao đổi cation (yếu), ví dụ Amberlite CG AG 50 I, H^+, từ 100 mesh đến 200 mesh, hoặc loại tương đương (Để lắng hai hoặc ba lần trước khi sử dụng).

5.13.3 Thiết bị, dụng cụ

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

5.13.3.1 Cột liên hợp [2], bao gồm:

– cột phía trên (150 mm x 12,5 mm, chiều cao nhồi tối đa 9 cm, hoặc 200 mm x 10 mm, chiều cao nhồi tối đa 14 cm, với mao quản đầu ra có đường kính trong 1 mm) nhồi chất trao đổi cation axit yếu (5.13.2.8), chiều cao chất nhồi lần lượt khoảng 50 mm và 60 mm hoặc 80 mm và 90 mm.

– cột phía dưới (chiều dài tổng 175 mm, đường kính trong 10 mm, với đầu ra mao quản và khoá Teflon) nhồi với chất trao đổi cation axit mạnh (5.13.2.7) chiều cao chất nhồi 60 mm.

– bình đựng dung môi, dùng phễu nhỏ giọt (100 ml) có khóa Teflon.

Tất cả các phần được nối bằng khớp nối thủy tinh mài chuẩn (14,5 mm).

5.13.3.2 Thiết bị HPLC, được trang bị cột HPLC LiChrosorb RP-8 (10 µm) [3] và detector UV có khả năng đo ở bước sóng 385 nm.

5.13.3.3 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.13.3.4 Pipet.

5.13.3.5 Thiết bị cô đặc, có thể hoạt động ở nhiệt độ 40 °C và áp suất 15 torr (2 kPa).

5.13.3.6 Thiết bị đo phổ, có thể đo ở bước sóng 385 nm.

---

[2] Tương tự mô tả trong J. Agr. Fd. Chem. 22 (1974) 110.

[3] Có thể sử dụng chất nhồi LiChrosorb RP-8, 10 µm và cột 250 mm x 4 mm "Vertex" của nhà sản xuất Knauer, Bad Homburg, Đức. Thông tin này đưa ra để thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, tiêu chuẩn này không ấn định phải sử dụng sản phẩm nêu trên. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

5.13.4 Cách tiến hành

5.13.4.1 Chiết mẫu

Cân từ 200 mg đến 250 mg mẫu thử, chính xác đến 0,1 mg, sau đó hòa tan trong 3 ml nước. Chuyển định lượng dung dịch mẫu thử sang phần phía trên của cột liên hợp (5.13.3.1). Bắt đầu rửa giải bằng nước, tổng thể tích nước qua các cột khoảng 100 ml.

Sau đó tháo cột phía trên. Rửa giải cột phía dưới bằng dung dịch axit clohydric (HCl) 0,5 N (5.13.2.4). Loại bỏ 10,0 ml dịch rửa giải ban đầu, sau đó thu lấy 35 ml.

Cô dung dịch này ở nhiệt độ 40 °C và áp suất 15 torr (2 kPa) đến khô. Hòa tan cặn dạng xiro trong 250 µl metanol (5.13.2.2) và 250 µl 2,4-dinitrophenylhydrazin (5.13.2.1). Chuyển hỗn hợp phản ứng sang lọ có nắp septum và bảo quản trong 5 h ở nhiệt độ phòng.

5.13.4.2 Phép xác định

Bơm 5 µl (cũng có thể từ 1 µl đến 25 µl) hỗn hợp phản ứng vào cột HPLC (5.13.3.2). Pha động là hỗn hợp metanol (5.13.2.2) : dung dịch axit phosphoric 0,1 M (5.13.2.5) (tỉ lệ thể tích 50 : 50) [4]. Với tốc độ pha động 2 ml/min và kích cỡ cột 250 mm x 4,6 mm, THI-DNPH được rửa giải sau khoảng 6,3 min ± 0,1 min. Phát hiện THI-DNPH ở bước sóng 385 nm và đo chiều cao của pic.

Tính hàm lượng THI dựa vào đường chuẩn của THI-DNPH trong metanol.

5.15 Xác định hàm lượng asen, theo TCVN 8900-9:2012.

5.16 Xác định hàm lượng chì, theo TCVN 8900-6:2012 hoặc TCVN 8900-8:2012.

---

[4] Điều chỉnh thành phần pha động nếu đặc tính của cột thay đổi, tuỳ thuộc nhà sản xuất.