

Mục lục	Trang	
• TCVN 8970 : 2011	Thực phẩm – Xác định iot-131, bari-140 và ccsi-137 bằng phương pháp đo phổ gamma.	5
• TCVN 8971 : 2011	Thực phẩm – Xác định ccsi-134 và ccsi-137 bằng phương pháp đo phổ gamma.	13
• TCVN 8972 -1 : 2011 EN 12823-1 : 2000	Thực phẩm – Xác định vitamin A bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao – Phần 1 : Xác định 13-cis-retinol và tất cả các đồng phân trans-retinol.	21
• TCVN 8972-2 : 2011 EN 1283-2 : 2000	Thực phẩm – Xác định vitamin A bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao – Phần 2 : Xác định β -caroten.	37
• TCVN 8973 : 2011 EN 12821 : 2009	Thực phẩm – Xác định vitamin D bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao – Xác định cholecalciferol (D3) hoặc ergocalciferol(D2).	51
• TCVN 8974 : 2011 EN 14148 : 2003	Thực phẩm – Xác định vi ta min K ₁ bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).	75
• TCVN 8975 : 2011 EN 14152 : 2003	Thực phẩm – Xác định vitamin B ₂ bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).	91
• TCVN 8976 : 2011 EN 14166: 2009	Thực phẩm – Xác định vitamin B ₆ bằng phép thử vi sinh.	105
• TCVN 8977 : 2011 EN 14130 : 2003	Thực phẩm – Xác định vitamin C bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).	121
• TCVN 8978 : 2011 EN 14131 : 2003	Thực phẩm – Xác định folat bằng phép thử vi sinh.	133

Lời nói đầu

TCVN 8970 : 2011 Được xây dựng dựa trên AOAC 973.67 Iodine-131, Barium-140 and Cesium-137 in milk and other foods. Gamma-ray spectroscopic method;

TCVN 8971 : 2011 Được xây dựng dựa trên AOAC 996.05 Cesium-134 and Cesium-137 in foods. γ -Ray spectrometric method;

TCVN 8972-1 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 12823-1 : 2000;

TCVN 8972-2 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 12823-2 : 2000;

TCVN 8973 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 12821 : 2009;

TCVN 8974 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 14148 : 2003 và đính chính kỹ thuật 2005;

TCVN 8975 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 14152 : 2003;

TCVN 8976 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 14166 : 2009;

TCVN 8977 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 14130 : 2003;

TCVN 8978 : 2011 hoàn toàn tương đương với EN 14131 : 2003;

TCVN 8970 : 2011; TCVN 8971 : 2011; TCVN 8972-1 : 2011; TCVN 8972-2 : 2011; TCVN 8973 : 2011 + TCVN 8978 : 2011 do ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 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.

Thực phẩm – Xác định vitamin C bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC)

Foodstuffs – Determination of vitamin C by high-performance liquid chromatography (HPLC)

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể cần phải sử dụng các vật liệu, thiết bị và các thao tác nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đề cập đến các vấn đề an toàn khi sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định vitamin C trong thực phẩm bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC). Hàm lượng vitamin C là tổng axit ascorbic L(+) và axit ascorbic L(+) đã khử hydro.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. 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.

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

3 Nguyên tắc

Vitamin C được chiết ra khỏi mẫu phân tích bằng dung dịch axit metaphosphoric. Dùng dung dịch khử để chuyển axit ascorbic L(+) đã khử hydro thành axit ascorbic L(+). Hàm lượng axit ascorbic L(+) tổng số được xác định bằng HPLC có detector UV ở bước sóng 265 nm [1], [2].

4 Thuốc thử

4.1 Yêu cầu chung

Trong quá trình phân tích, chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước sử dụng là nước cất hai lần hoặc ít nhất là loại 1 của TCVN 4851 (ISO 3696), trừ khi có quy định khác.

4.2 Hoá chất và các dung dịch

4.2.1 Axit metaphosphoric (HPO_3)_n

4.2.2 Trinatri phosphat, $w(\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}) \geq 98,0\%$ (phần khối lượng).

4.2.3 Kali dihydro phosphat, $w(\text{KH}_2\text{PO}_4) \geq 99,0\%$.

4.2.4 L-cystein hoặc chất khử thích hợp khác, $w(\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}) \geq 99,0\%$.

4.2.5 N-cetyl-N,N,N-trimethylamoni bromua, $w(\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}) \geq 99,0\%$.

4.2.6 Metanol, (loại dùng cho HPLC), $w(\text{CH}_3\text{OH}) \geq 99,0\%$

4.2.7 Dung dịch axit metaphosphoric, $\rho[(\text{HPO}_3)_n] = 200 \text{ g/l}$

Hòa tan 200 g axit metaphosphoric (4.2.1) trong nước đựng trong bình định mức 1 lít, thêm nước đến vạch. Dung dịch này khi được bảo quản ở 4 °C có thể bền đến một tháng.

4.2.8 Dung dịch axit metaphosphoric, $\rho[(\text{HPO}_3)_n] = 20 \text{ g/l}$

Dùng pipet lấy 50 ml dung dịch metaphosphoric (4.2.7) cho vào bình định mức 500 ml. Thêm nước đến vạch. Chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

4.2.9 Dung dịch trinatri phosphat, $\rho(\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}) = 200 \text{ g/l}$

Hòa tan 200 g trinatri phosphat (4.2.2) trong nước trong bình định mức 1 lít, thêm nước đến vạch.

4.2.10 Dung dịch L-cystein, $\rho(\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{S}) = 40 \text{ g/l}$

Hòa tan 20 g L-cystein (4.2.4) trong nước trong bình định mức 500 ml. Thêm nước đến vạch. Chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

4.2.11 Pha động dùng cho HPLC

Hòa tan 13,6 g kali dihydro phosphat (4.2.3) trong 900 ml nước đựng trong cốc có mỏ. Lọc qua bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μm (dung dịch A). Hòa tan 1,82 g N-cetyl-N,N,N-trimethylamoni bromua (4.2.5) trong 100 ml

metanol (4.2.6) đựng trong cốc có mỡ. Trộn kỹ rồi lọc qua bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μm (dung dịch B). Trộn 900 ml dung dịch A với 100 ml dung dịch B. Khử khí dung dịch trước khi sử dụng, nếu cần.

4.2.12 Dung dịch tinh bột (tùy chọn), $\rho(\text{tinh bột hòa tan}) = 1 \text{ g}/100 \text{ ml}$.

4.2.13 Dung dịch iot (tùy chọn), $\alpha(\text{I}_2) = 0,05 \text{ mol/l}$.

4.2.14 Axit sulfuric loãng, $\alpha(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/l}$.

4.3 Chất chuẩn

4.3.1 Axit ascorbic, axit ascorbic L(+), $w(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \geq 99,7 \%$

(R)-5-[(S)-1,2-Dihydroxyetyl]-3,4-dihydroxy-5-H-furan-2-on

4.3.2 Axit erythorbic (isoascorbic), axit ascorbic D(-), $w(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \geq 99,0 \%$

(R)-5-[(R)-1,2-Dihydroxyetyl]-3,4-dihydroxy-5-H-furan-2-on

4.4 Dung dịch gốc

4.4.1 Dung dịch gốc axit ascorbic, $\rho(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \approx 1 \text{ mg/ml}$

Hòa tan một lượng axit ascorbic (4.3.1) đã được cân chính xác đến 0,1 mg, ví dụ khoảng 100 mg, trong một thể tích xác định, ví dụ 100 ml dung dịch axit metaphosphoric (4.2.8). Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

Có thể tăng tính ổn định của dung dịch gốc bằng cách bổ sung L-cystein.

4.4.2 Dung dịch gốc axit erythorbic, $\rho(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6) \approx 1 \text{ mg/ml}$

Hòa tan một lượng axit erythorbic (4.3.2) đã được cân chính xác đến 0,1 mg, ví dụ khoảng 100 mg, trong một thể tích xác định, ví dụ 100 ml dung dịch axit metaphosphoric (4.2.8). Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

4.4.3 Phép thử độ tinh khiết (tùy chọn)

Cân chính xác khoảng 150 mg chất chuẩn axit ascorbic cho vào bình nón và hòa tan bằng cách thêm 10 ml axit sulfuric loãng (4.2.14) và 80 ml nước không chứa cacbon dioxit. Sau khi thêm tinh bột hoặc dung dịch tinh bột (4.2.12), thì chuẩn độ với dung dịch iot (4.2.13) cho đến khi có màu ổn định, 1 ml dung dịch iot tương ứng với 8,81 mg axit ascorbic.

Tính độ tinh khiết của chất chuẩn, w_{st} , bằng phần trăm theo Công thức (1):

$$w_{st} = \frac{V_1 \times 8,81 \times 100}{m}$$

Trong đó:

V_1 là thể tích dung dịch iot được sử dụng, tính bằng mililit (ml);

m là khối lượng mẫu, tính bằng miligam (mg);

8,81 là hệ số chuyển đổi;

100 là hệ số chuyển đổi để có được kết quả bằng phần trăm.

4.5 Dung dịch hiệu chuẩn

4.5.1 Dung dịch hiệu chuẩn axit ascorbic, $\rho(C_6H_8O_6) = 5 \mu\text{g/ml}$ đến $50 \mu\text{g/ml}$

Dùng pipet lấy 0,5 ml đến 5 ml dung dịch gốc axit ascorbic (4.4.1) cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng axit metaphosphoric (4.2.8) đến vạch. Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

4.5.2 Dung dịch hiệu chuẩn axit erythorbic (tùy chọn), $\rho(C_6H_8O_6) \approx 10 \mu\text{g/ml}$

Dùng pipet lấy 1 ml dung dịch gốc axit erythorbic (4.4.2) cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng axit metaphosphoric (4.2.8) đến vạch. Dung dịch chuẩn này cần có nồng độ axit erythorbic từ $5 \mu\text{g/ml}$ đến $20 \mu\text{g/ml}$. Chuẩn bị dung dịch mới trong ngày sử dụng.

5 Thiết bị, dụng cụ

5.1 Yêu cầu chung

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

5.2 Máy đo phổ UV

Có thể đo các độ hấp thụ ở các bước sóng xác định.

5.3 Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao

Gồm có bơm, bộ bơm mẫu, detector UV được cài đặt ở bước sóng 265 nm và có hệ thống đánh giá là bộ tích phân.

5.4 Cột HPLC

5.4.1 Yêu cầu chung

Có thể sử dụng các kích cỡ cột hoặc cỡ hạt khác với quy định trong tiêu chuẩn này. Các thông số tách cần phù hợp với vật liệu sử dụng để đảm bảo các kết quả tương đương. Tiêu chí thực hiện đối với các cột phân tích thích hợp là độ phân giải đường nền của axit L-ascorbic và axit erythorbic [3]

5.4.2 Cột phân tích

Cột phân tích, ví dụ như Lichropher®100 RP¹⁾, có cỡ hạt 5 µm, đường kính 4,0 mm, dài 250 mm.

5.5 Dụng cụ lọc

Bộ lọc màng, ví dụ cỡ lỗ 0,2 µm hoặc 0,45 µm. Lọc pha động cũng như lọc dung dịch mẫu thử qua bộ lọc màng, trước khi sử dụng hoặc trước khi bơm sẽ kéo dài thời gian sử dụng của cột.

6 Cách tiến hành

6.1 Yêu cầu chung

Các dung dịch chuẩn và các dung dịch mẫu cần được phân tích càng sớm càng tốt, giữ ở nhiệt độ dưới 25 °C trong suốt quá trình phân tích và loại bỏ sau 8 h.

6.2 Chuẩn bị mẫu thử

Đồng hoá mẫu thử. Nghiền thô nguyên liệu trong máy nghiền thích hợp và trộn lại. Tiến hành phân tích ngay sau khi đồng hoá. Để chuẩn bị mẫu thử đối với rau và trái cây nguyên liệu, cần phải qua quá trình chiết (6.3.1).

6.3 Chuẩn bị dung dịch mẫu thử

6.3.1 Chiết mẫu

Cân một lượng mẫu thích hợp, ví dụ: 3 g nếu hàm lượng vitamin C khoảng 50 mg/100 g, chính xác đến 1 mg, cho vào bình định mức 100 ml. Thêm 80 ml dung dịch axit metaphosphoric (4.2.8) và lắc bình. Thêm axit metaphosphoric đến vạch, lắc và lọc để thu được dung dịch chiết mẫu.

Đối với rau và trái cây nguyên liệu, dùng dao để thái nhỏ, trộn và cân một lượng mẫu thích hợp, chính xác đến miligam, ví dụ: từ 2 g đến 10 g mẫu thử cho trực tiếp vào trong cốc có mỏ 100 ml có chứa axit metaphosphoric (4.2.8). Đồng hoá rồi chuyển định lượng vào bình định mức 100 ml. Lắc và lọc để thu được dịch chiết mẫu.

CHÚ THÍCH Có thể tăng tính ổn định của dung dịch axit ascorbic, ví dụ bằng cách bổ sung 125 ml dung dịch cystein (4.2.10) hoặc dithiothreitol (DTTA) hoặc axit phosphoric triamin diethylen (DTPA) vào dung dịch axit metaphosphoric. Tuy nhiên, các chất ổn định này có thể ảnh hưởng đến phép sắc ký và chưa được sử dụng cho phép thử liên phòng thử nghiệm.

¹⁾ Cột Lichropher®100 RP là một ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng chúng, có thể sử dụng các sản phẩm tương đương nếu cho các kết quả tương tự.

TCVN 8977:2011

6.3.2 Bước khử

Cho ngay 20 ml dung dịch mẫu chiết (6.3.1) vào cốc có mỏ 50 ml. Thêm 10 ml dung dịch L-cystein (4.2.10). Khuấy dung dịch bằng que khuấy từ và chỉnh pH đến khoảng từ 7,0 và 7,2 bằng cách thêm dung dịch trinitri phosphat (4.2.9) và khuấy đúng 5 min. Sau đó giảm pH đến khoảng từ 2,5 đến 2,8 bằng cách thêm dung dịch axit metaphosphoric (4.2.7). Chuyển định lượng sang bình định mức 50 ml, tráng rửa điện cực, que khuấy từ và cốc có mỏ bằng nước. Thêm nước đến vạch. Lọc qua bộ lọc màng (5.5), sử dụng dịch lọc này để phân tích sắc ký.

Nếu mẫu có chứa các chất làm đặc hoặc chất làm rắn thì làm kết tủa chúng để tránh làm tắc nghẽn cột. Trong trường hợp đó, thêm 1 ml metanol (4.2.6) vào 4 ml dung dịch mẫu khử. Lọc qua bộ lọc màng (5.5), sử dụng dịch lọc này để phân tích sắc ký.

6.4 Nhận biết

Nhận biết axit L-ascorbic bằng cách so sánh thời gian lưu của các pic riêng rẽ trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch mẫu thử và dung dịch chuẩn. Việc nhận biết pic cũng có thể được thực hiện bằng cách thêm chuẩn vào dung dịch mẫu thử.

Việc tách và định lượng được chứng minh là thỏa mãn nếu các điều kiện thực nghiệm sau đây được thực hiện (xem Hình A.1). Các điều kiện sau đây được sử dụng trong nghiên cứu liên phòng thử nghiệm:

Pha tĩnh: Lichrospher® 100 RP 18, cỡ hạt 5 µm, kích thước 250 mm x 4,0 mm

Pha động: Dung dịch A + dung dịch B (4.2.11)

Tốc độ dòng: 0,7 ml/min

Thể tích bơm: 30 µl

Detector: UV bước sóng 265 nm.

Quy trình này có thể được sử dụng để định lượng axit erythorbic không được tính là vitamin C.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng các điều kiện sắc ký thích hợp khác như: pha động có 10 % axetonitril và 90 % nước có chứa kali dihydro phosphat 13,6 g/l và cetrimid 2 g/l, cột C8 cỡ hạt 10 µm, kích thước 250 mm x 4,6 mm và tốc độ dòng (1,0 ± 0,1) ml/min.

6.5 Xác định

Tùy thuộc vào hệ thống, bơm các thể tích thích hợp (không quá 50 µl) dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu thử vào hệ thống HPLC. Tiến hành xác định hiệu chuẩn dùng phương pháp ngoại chuẩn, tích phân các diện tích pic hoặc chiều cao pic, so sánh kết quả với các giá trị tương ứng của chất chuẩn, hoặc sử dụng đường chuẩn. Kiểm tra độ tuyến tính của đường chuẩn.

7 Tinh kết quả

Tính theo đường chuẩn hoặc sử dụng các chương trình thích hợp của bộ tích phân hoặc sử dụng công thức giản lược sau đây.

Tính phần khối lượng của axit ascorbic, w , bằng miligam trên 100 g (mg/100 g) mẫu, theo Công thức (2) sau đây:

$$w = \frac{A_s \times \rho \times V \times F \times 100}{A_{sr} \times m \times 1000} \quad (2)$$

Trong đó:

A_s là diện tích pic hoặc chiều cao pic của axit L-ascorbic thu được với dung dịch mẫu thử (6.3.2), tính bằng đơn vị chiều cao hoặc diện tích;

A_{sr} là diện tích pic hoặc chiều cao pic của axit L-ascorbic thu được với dung dịch hiệu chuẩn (4.5.1), tính bằng đơn vị chiều cao hoặc diện tích;

ρ là nồng độ của axit L-ascorbic trong dung dịch chuẩn, tính bằng microgam trên mililit ($\mu\text{g/ml}$);

m là khối lượng mẫu, tính bằng gam (g);

V là tổng thể tích dung dịch mẫu thử (6.3.1) trước bước khử, tính bằng mililit (ml);

F là hệ số pha loãng của bước khử (trong trường hợp này là 2,5);

1000 là hệ số chuyển đổi miligam thành gam.

100 là hệ số để tính hàm lượng trên 100 g;

Báo cáo kết quả vitamin C bằng miligam trên 100 g (mg/100 g).

Nếu có bước kết tủa (6.3.2), thì trong Công thức (2) phải nhân với 5/4.

8 Độ chụm

8.1 Yêu cầu chung

Dữ liệu về độ chụm của phép xác định vitamin C được thiết lập năm 1997 từ phép thử liên phòng thử nghiệm phù hợp với ISO 5725 do Arella et al. thực hiện [2], [4]. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ phân tích và chất nền khác với dải nồng độ và chất nền nêu trong Phụ lục B.

TCVN 8977:2011

8.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được khi tiến hành trên vật liệu thử giống hệt nhau, do một người thực hiện sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại r .

Các giá trị đối với tổng số vitamin C là:

Nước cam	$\bar{x} = 54,6 \text{ mg/100 g}$	$r = 6,4 \text{ mg/100 g}$
Xúp lỏng	$\bar{x} = 35,6 \text{ mg/100 g}$	$r = 3,7 \text{ mg/100 g}$
Sữa bột	$\bar{x} = 100,3 \text{ mg/100 g}$	$r = 17,9 \text{ mg/100 g}$
Xúp đông khô	$\bar{x} = 169,3 \text{ mg/100 g}$	$r = 42,0 \text{ mg/100 g}$
Ngũ cốc ăn nhanh	$\bar{x} = 102,6 \text{ mg/100 g}$	$r = 28,7 \text{ mg/100 g}$
Thức ăn cho trẻ nhỏ từ trái cây	$\bar{x} = 47,1 \text{ mg/100 g}$	$r = 7,1 \text{ mg/100 g}$

8.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được bởi hai phòng thử nghiệm khi tiến hành trên vật liệu thử giống hệt nhau, không quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn tái lập R .

Các giá trị đối với tổng số vitamin C là:

Nước cam	$\bar{x} = 54,6 \text{ mg/100 g}$	$R = 30,3 \text{ mg/100 g}$
Xúp lỏng	$\bar{x} = 35,6 \text{ mg/100 g}$	$R = 21,7 \text{ mg/100 g}$
Sữa bột	$\bar{x} = 100,3 \text{ mg/100 g}$	$R = 32,2 \text{ mg/100 g}$
Xúp đông khô	$\bar{x} = 169,3 \text{ mg/100 g}$	$R = 74,3 \text{ mg/100 g}$
Ngũ cốc ăn nhanh	$\bar{x} = 102,6 \text{ mg/100 g}$	$R = 56,2 \text{ mg/100 g}$
Thức ăn cho trẻ nhỏ từ trái cây	$\bar{x} = 47,1 \text{ mg/100 g}$	$R = 23,9 \text{ mg/100 g}$

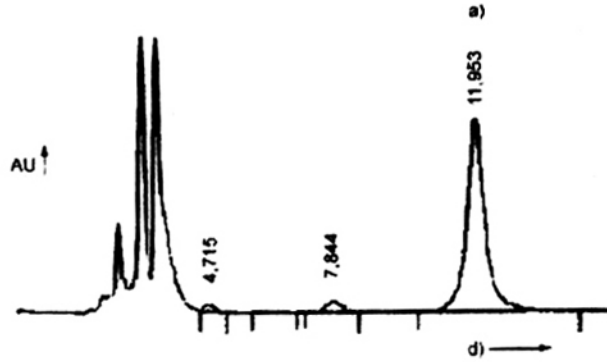
9 Báo cáo thử nghiệm

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

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;

- b) viện dẫn tiêu chuẩn này hoặc phương pháp thử đã sử dụng;
- c) ngày và quy trình lấy mẫu (nếu biết);
- d) ngày nhận mẫu;
- e) ngày thử nghiệm;
- f) các kết quả và các đơn vị biểu thị kết quả;
- g) các điểm đặc biệt quan sát được trong khi tiến hành thử nghiệm;
- h) mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy chọn có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A
(tham khảo)
Ví dụ về sắc ký đồ



CHÚ DẪN:

- a) axit L-ascorbic
- d) thời gian

Hình A.1 – Ví dụ về định lượng axit ascorbic trong nước cam bằng HPLC

Điều kiện vận hành:

- Pha tĩnh: Lichrospher[®] 100 RP 18, cỡ hạt 5 μm , kích thước 250 mm x 4,0 mm
- Pha động: dung dịch A + dung dịch B (4.2.11)
- Tốc độ dòng: 0,7 ml/min
- Thể tích bơm: 30 μl
- Detector: UV bước sóng 265 nm
- Axit L-ascorbic: $t_{\text{luu}} = 11,953$ min

Phụ lục B

(tham khảo)

Dữ liệu về độ chụm

Trong Bảng B.1 đưa ra các thông số về độ chụm đã được xác định trong nghiên cứu cộng tác [2], [4]. Trong phép thử liên phòng này, các dữ liệu thu được bằng cách bỏ qua bước khử.

CHÚ THÍCH: Sau khi thực hiện các thử nghiệm này, ISO 5725:1986 đã được thay thế bằng ISO 5725-1, ISO 5725-2, ISO 5725-3, ISO 5725-4 và ISO 5725-6 (tất cả xuất bản năm 1994) và ISO 5725-5:1998.

Bảng B.1 – Dữ liệu về độ chụm đối với vitamin C

Mẫu	1	2	3	4	5	6
Năm thử nghiệm	1997	1997	1997	1997	1997	1997
Số lượng phòng thử nghiệm	15	15	15	15	15	15
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	14	15	14	14	14	14
Số lượng kết quả được giữ lại	28	30	28	28	28	28
Giá trị trung bình, \bar{x} (mg/100 g)	54,6	35,6	100,3	169,3	102,6	47,1
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r (mg/100g)	2,3	1,3	6,3	14,8	10,2	2,5
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	4,2	3,6	6,3	8,8	9,9	5,3
Độ lặp lại ($2,8 \times s_r$) (mg/100 g)	6,4	3,7	17,9	42,0	28,7	7,1
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R (mg/100 g)	10,7	7,7	11,4	26,2	19,8	8,5
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập	19,7 %	21,6 %	11,4 %	15,5 %	19,3 %	18,0 %
Độ tái lập ($2,8 \times s_R$) (mg/100 g)	30,3	21,7	32,2	74,3	56,2	23,9
^a 1 Nước cam, 2 Xúp lỏng, 3 Sữa bột, 4 Xúp đông khô, 5 Ngũ cốc ăn nhanh, 6 Thức ăn cho trẻ nhỏ từ trái cây						

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Dennison D.B., Brawley T.G., Hunter G.L.K., (1981), J. Agric. Food Chem., 29, 925-927.
 - [2] Arella F., Deborde J.L., Bourgulgnon J.B., Hasselmann C., (1997), Ann. Fals. Exp. Chim., 90. N°940:217-233.
 - [3] Coustard J.M., Sudraud G., (1981), Journal of Chromatography, 219. 338-342.
 - [4] ISO 5725:1986, Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.
-