

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 11067:2016

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM CHỨC NĂNG –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG BETA CAROTEN
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

*Dietary supplements – Determination of β -carotene content
by high performance liquid chromatographic method*

HÀ NỘI – 2016

Lời nói đầu

TCVN 11067:2016 được xây dựng trên cơ sở AOAC 2005.07 *β -Carotene in supplements and raw materials. Reversed-phase high pressure liquid chromatographic method*;

TCVN 11067:2016 do Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia biên soạn, Bộ Y tế đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thực phẩm chức năng – Xác định hàm lượng beta caroten bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Dietary supplements – Determination of β -carotene content by high performance liquid chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng β -caroten trong nguyên liệu và các sản phẩm thực phẩm chức năng bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) pha đảo.

Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho các dạng thực phẩm chức năng chứa hàm lượng β -caroten từ 0 mg/g đến 200 mg/g.

Đối với các loại thực phẩm thông thường, sử dụng TCVN 8972-2:2011 (EN 12823-2:2000), *Thực phẩm – Xác định vitamin A bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao – Phần 2: Xác định β -caroten*.

2 Nguyên tắc

Các mẫu có thể phân tán trong nước (dạng bột, nhũ tương, viên nang, viên nén) được thủy phân bằng proteaza, sau đó β -caroten được chiết bằng hỗn hợp diclometan và etanol. Các mẫu dạng nhũ tương dầu được hòa tan trực tiếp trong hỗn hợp của diclometan và etanol.

Dịch chiết được phân tích trên hệ thống HPLC đẳng dòng, sử dụng cột C18, cho phép tách các đồng phân β -caroten ra khỏi nhau và ra khỏi các carotenoid khác như all-trans- α -caroten, lycopene, cryptoxanthin, lutein và zeaxanthin.

Trong trường hợp mẫu có hàm lượng α -caroten cao, đồng phân dạng cis- α -caroten gây trở ngại cho việc xác định β -caroten thì sử dụng thêm hệ thống HPLC pha đảo với cột C30 và gradient cho pha động.

3 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích, dùng cho sắc ký lỏng hiệu năng cao hoặc có chất lượng tương đương. Nước sử dụng phải là nước đã khử ion hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

TCVN 11067:2016

- 3.1 **Chất chuẩn β -caroten**, tinh khiết ($> 95\%$) ¹⁾.
- 3.2 **Proteaza R kiểm**.
- 3.3 **n-Hexan**, tinh khiết ($\geq 99\%$), không chứa peroxit.
- 3.4 **Cyclohexan**, tinh khiết ($\geq 99,5\%$).
- 3.5 **Etanol**, tinh khiết ($\geq 99,5\%$).
- 3.6 **Diclometan**, tinh khiết ($\geq 99,5\%$).
- 3.7 **Metanol**, tinh khiết ($\geq 99,8\%$).
- 3.8 **Hydroxyltoluen đã butyl hóa (BHT)**, tinh khiết ($> 99\%$).
- 3.9 **N-etyl diisopropylamin**, tinh khiết ($\geq 98\%$).
- 3.10 **2-Propanol**, tinh khiết ($\geq 98\%$).
- 3.11 **Amoni axetat ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$)** tinh khiết ($\geq 98\%$).
- 3.12 **Axetonitril**, tinh khiết ($\geq 99,9\%$).
- 3.13 **Metyl-tert-butyl ete (MTBE)**, tinh khiết ($\geq 99,5\%$).
- 3.14 **Axit ascorbic (vitamin C)**, tinh khiết ($\geq 99,7\%$).
- 3.15 **Tetrahydrofuran (THF)**, tinh khiết ($\geq 99,5\%$).
- 3.16 **Dung dịch amoni axetat, 0,2 %**

Hoà tan 0,5g amoni axetat (3.11) trong 250 ml nước, bảo quản được trong một tháng hoặc lâu hơn ở nhiệt độ 5 °C.

- 3.17 **Pha động A** (với mẫu có hàm lượng α -caroten nhỏ hơn 5 %)

Hòa tan 50 mg BHT (3.8) trong 20 mL 2-propanol (3.10) vào bình định mức 1 lít, thêm 0,2 ml N-etyl diisopropylamin (3.9), 25 ml dung dịch amoni axetat 0,2 % (3.16), 455 ml axetonitril (3.12) và khoảng 450 ml metanol (3.7). Để về nhiệt độ phòng và thêm metanol đến vạch.

¹⁾ Có thể sử dụng sản phẩm của Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA. Thông tin này đưa ra để thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và tiêu chuẩn này không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho các kết quả tương đương.

3.18 Pha động B (với mẫu có hàm lượng α -caroten lớn hơn 5 %)

- Kênh 1: Hoà tan 200 mg vitamin C (3.14) trong 500 ml metanol đựng trong bình định mức 1 lít, rung siêu âm nếu cần. Thêm 100 ml MTBE (3.13) và thêm metanol (3.7) đến vạch. Chuẩn bị dung dịch mới sau hai ngày.
- Kênh 2: MTBE (3.13).

3.19 Dung dịch kiểm tra hệ thống LC

Hoà tan khoảng 3 mg β -caroten (3.1) và 1 g BHT (3.8) trong 50 ml THF (3.15), thêm 200 ml etanol (3.5) và đun hồi lưu trong nồi cách thủy (4.5) ở 80 °C trong 2 h, để nguội và thêm etanol đến 500 ml, chuyển dung dịch vào một lọ thủy tinh (4.11), lắc đều và để qua đêm tại nhiệt độ phòng. Dung dịch sau đó được chuyển vào các lọ đựng mẫu cho HPLC cỡ lớn (4.14), đậy kín nắp và bảo quản nơi tối ở nhiệt độ 5 °C.

3.20 Chuẩn bị các dung dịch chuẩn làm việc

Hoà tan 10 mg all-trans- β -caroten trong 5 ml diclometan (3.6) vào bình định mức 100 ml. Thêm 50 ml etanol (3.5) và đun sôi hồi lưu trong nồi cách thủy (4.5) ở 80 °C trong 2 h. Thêm khoảng 40 ml diclometan (3.6), để về nhiệt độ phòng và thêm diclometan (3.6) đến vạch, thu được dung dịch có nồng độ 100 $\mu\text{g/ml}$. Pha loãng dung dịch này với hỗn hợp dung môi etanol : diclometan theo tỉ lệ trong Bảng 1 để được dãy dung dịch chứa β -caroten có nồng độ từ 100 $\mu\text{g/ml}$ tới 0,05 $\mu\text{g/ml}$.

Bảng 1 – Khoảng tuyến tính của β -caroten

Nồng độ dung dịch được pha loãng, $\mu\text{g/ml}$	Pha loãng với tỉ lệ dung môi	Nồng độ cuối, $\mu\text{g/ml}$
100	1 : 1	50
100	1 : 4	20
100	1 : 9	10
50	1 : 9	5
20	1 : 9	2
10	1 : 9	1
5	1 : 9	0,5
2	1 : 9	0,2
1	1 : 9	0,1
0,5	1 : 9	0,05

4 Thiết bị, dụng cụ

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

4.1 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,5 mg.

4.2 Máy đo phổ UV-Vis, loại hai chùm tia, khoảng bước sóng từ 190 nm đến 900 nm, độ rộng dải phổ 1,5 nm, độ chính xác bước sóng 0,07 nm (tại 541,92 nm), độ tái lập bước sóng 0,01 nm.

4.3 Bể rung siêu âm, công suất 150 W, tần số 35 kHz, dung tích 4 lít.

4.4 Máy cô quay chân không, tốc độ quay từ 5 r/min đến 240 r/min, nhiệt độ từ 20 °C đến 100 °C, được nối với bơm chân không, áp suất tối thiểu 10 mbar.

4.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ ở 80 °C.

4.6 Máy đồng hóa mẫu, có đầu dò.

4.7 Máy ly tâm lạnh, có thể ly tâm với tốc độ 6 000 r/min.

4.8 Xyranh, loại dùng một lần, dung tích 2 ml.

4.9 Màng lọc, cỡ lỗ 0,2 µm và 0,45 µm, đường kính 25 mm.

4.10 Pipet thủy tinh, dung tích 5 và 10 ml.

4.11 Lọ thủy tinh, màu nâu, dung tích 500 ml.

4.12 Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao: gồm bộ loại khí, bơm, bộ bơm mẫu tự động, detector UV-Vis, máy tích phân và các thiết bị phụ trợ kèm theo.

4.13 Cột sắc ký

– Hệ thống A: Suplex pKb-100, Supelco²⁾, kích thước 250 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 µm.

– Hệ thống B: YMC-Pack C30²⁾, kích thước 250 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 µm.

4.14 Lọ đựng mẫu cho HPLC, cỡ lớn, có nắp đậy có vách ngăn teflon hoặc silicon.

4.15 Pipet tự động, có thể phân phối các thể tích 200 và 1000 µl.

4.16 Bình định mức, dung tích 50, 100, 250 và 1 000 ml.

4.17 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,01 mg.

²⁾ Sản phẩm phù hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra để thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và tiêu chuẩn này không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho các kết quả tương đương.

5 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không được quy định trong tiêu chuẩn này.

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và không thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

6 Cách tiến hành

6.1 Xác định độ tinh khiết của chất chuẩn

Xác định độ tinh khiết của chất chuẩn β -caroten qua hai bước: sử dụng máy đo phổ UV-Vis và sử dụng hệ thống HPLC.

6.1.1 Xác định độ tinh khiết của chất chuẩn dựa vào đo phổ UV-Vis (SP)

Cân khoảng 6 mg all-trans- β -caroten (3.1), chính xác đến 0,01 mg, hòa tan trong 100 ml THF (3.15) thu được dung dịch chuẩn gốc A. Lấy 5 ml A cho vào bình định mức 100 ml (4.16), thêm cyclohexan (3.4) đến vạch thu được dung dịch chứa nồng độ β -caroten 3 μ g/ml trong hỗn hợp cyclohexan : THF (95 : 5). Đo độ hấp thụ của dung dịch này so với cyclohexan, sử dụng máy đo phổ UV-Vis (4.2) tại bước sóng hấp thụ cực đại 457 nm.

– Tính hệ số tắt phân tử $E_{app}(1\%, 1\text{ cm})$ của chất chuẩn theo công thức sau:

$$E_{app}(1\%, 1\text{ cm}) = A \times (2/w) \times (10\,000/B)$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ cực đại;

2 là hệ số pha loãng;

w là khối lượng chất chuẩn, tính bằng miligam (mg);

$10\,000$ là hệ số chuyển đổi từ % sang mg/l;

B là chiều dài cuvet, tính bằng centimet (cm).

– Tính độ tinh khiết phổ của β -caroten như sau:

$$SP = E_{app}(1\%, 1\text{ cm})/2505$$

Trong đó, 2505 là giá trị $E(1\%, 1\text{ cm})$ của chất chuẩn tinh khiết trong cyclohexan.

TCVN 11067:2016

6.1.2 Xác định độ tinh khiết của chất chuẩn sử dụng hệ thống sắc ký (CP)

Lấy chính xác 5 ml dung dịch A đã chuẩn bị ở 6.1.1 vào bình định mức 100 ml. Thêm 5 ml THF (3.15) và thêm etanol (3.5) đến vạch thu được dung dịch có nồng độ β -caroten 3 $\mu\text{g/ml}$ trong hỗn hợp etanol : THF (9 : 1). Bơm ngay 6 lần (mỗi lần 20 μl) dung dịch chuẩn này vào hệ thống sắc ký A. Xác định độ tinh khiết CP của β -caroten so với các hợp chất khác trong sắc đồ như sau (bỏ qua nền dung môi hoặc bất kì pic nào xuất hiện trong sắc đồ của pic mẫu trắng dung môi):

$$CP = \text{Diện tích chuẩn } \beta\text{-caroten} / \text{tổng diện tích của tất cả các pic liên quan}$$

Tính giá trị trung bình từ CP của 6 lần bơm.

6.1.3 Xác định độ tinh khiết của chất chuẩn

Tính độ tinh khiết của chất chuẩn β -caroten, P, bằng phần trăm khối lượng, như sau:

$$P = SP \times CP \times 100$$

Trong đó 100 là hệ số chuyển đổi tính ra phần trăm.

6.2 Xử lý mẫu

Trước khi phân tích, bảo quản mẫu thử nơi tối ở nhiệt độ khoảng 4 °C. Với viên nén, nghiền kĩ bằng máy đồng hóa (4.6) cho đến khi đồng nhất. Với viên nang, tùy theo dạng mẫu mà trích lấy một phần, ước lượng hàm lượng β -caroten trong mẫu để cân một lượng phù hợp.

6.2.1 Mẫu dạng dung dịch dầu hoặc thể huyền phù

Cân chính xác đến 0,1 mg lượng mẫu có chứa khoảng 20 mg β -caroten cho vào bình định mức 250 ml (4.16), thêm 250 mg BHT (3.8), 120 ml diclometan (3.6), 100 ml etanol (3.5), lắc đều cho tan hết, để yên 2 h nơi tối. Thêm diclometan (3.6) đến vạch, lắc đều và để cho các chất rắn lắng xuống dưới. Dùng pipet thủy tinh (4.10) lấy 5 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 50 ml (4.16), thêm hỗn hợp diclometan : etanol (1 : 1) đến vạch, lọc qua màng lọc 0,2 μm (4.9), rồi đem phân tích theo 6.3.

6.2.2 Mẫu dạng bột, hạt, nhũ tương

Cân chính xác đến 0,1 mg lượng mẫu chứa khoảng 10 mg β -caroten cho vào bình định mức 250 ml (4.16), thêm 250 mg BHT (3.8), 0,5 ml proteaza R kiềm (3.2) và 15 ml nước. Nghiêng bình để thấm ướt toàn bộ mặt trong. Để bình định mức trong bể rung siêu âm (4.3) ở nhiệt độ 50 °C trong 30 min (cứ 10 min lắc một lần). Sau đó thêm 100 ml dung dịch etanol (3.5) và lắc đều. Thêm 135 ml diclometan (3.6), lắc đều. Để bình định mức trong bóng tối ở nhiệt độ phòng khoảng 2 h. Định mức bằng diclometan, lắc đều và để cho các chất rắn lắng xuống dưới. Dùng pipet thủy tinh (4.10) lấy 5 ml

dung dịch trên cho vào bình định mức 50 ml, định mức bằng hỗn hợp diclometan: etanol (1:1), lọc qua màng lọc 0,2 μm (4.9), rồi đem phân tích theo 6.3.

6.2.3 Mẫu dạng viên nén và viên nang

Lấy ngẫu nhiên một phần mẫu thử từ 1 viên đến 3 viên có khối lượng không lớn hơn 5 g, cân chính xác đến 0,1 mg. Nghiền nhỏ viên nén, cho vào bình định mức 250 ml (4.16). Với viên nang, tháo vỏ sau đó cho cả phần vỏ và phần bột vào bình định mức 250 ml (nếu viên nang có chứa phần bên trong dạng lỏng thì cho cả viên vào bình). Thêm 250 mg BHT (3.8), 0,5 ml protease R kiềm (3.2), 15 ml nước, nghiêng bình để thấm ướt toàn bộ mặt trong. Để bình định mức trong bể rung siêu âm (4.3) ở nhiệt độ 50 °C trong 30 min (10 min lắc 1 lần).

Sau đó thêm 100 ml etanol (3.5) và lắc đều. Thêm 120 ml diclometan (3.6), lắc đều. Dùng máy đồng hóa mẫu có đầu dò (4.6) để phá các cục còn vón lại trong bình, tráng đầu dò của máy bằng 15 ml diclometan, cho nước tráng vào bình định mức. Để yên bình định mức ở nơi tối khoảng 2 h. Định mức bằng diclometan, lắc đều và để cho các chất rắn lắng xuống.

Tùy thuộc vào lượng β -caroten trong mẫu, có thể làm theo một trong các cách sau:

+ Lượng β -caroten dưới 0,1 mg: Gạn lấy một lượng đại diện (khoảng 50 ml) dịch trong phía trên vào bình cầu 250 ml, cô quay chân không (4.4) tại 40 °C tới khô, hòa cạn với lượng hỗn hợp diclometan : etanol (1 : 1) sao cho nồng độ chất phân tích trong mẫu được làm giàu khoảng 10 lần. Lọc qua màng lọc 0,45 μm (4.9), rồi phân tích trên HPLC.

+ Lượng β -caroten từ 0,1 mg đến 10 mg: lọc qua màng lọc 0,45 μm (4.9), rồi phân tích trên HPLC.

+ Lượng β -caroten trên 10 mg: pha loãng phần dịch trong phía trên với hỗn hợp diclometan : etanol (1 : 1) để được nồng độ β -caroten trong dịch cuối từ 1 $\mu\text{g/ml}$ đến 10 $\mu\text{g/ml}$, lọc qua màng lọc 0,45 μm (4.9), rồi phân tích trên HPLC.

6.3 Xác định

6.3.1 Điều kiện vận hành HPLC

Trước tiên, mẫu thử được phân tích trên hệ thống HPLC A sử dụng cột C18. Trên hệ thống này, đồng phân dạng cis- α -caroten có thể ảnh hưởng tới dạng trans và cis- β -caroten. Trong trường hợp diện tích pic sắc ký của all-trans- α -caroten vượt quá 5 % tổng diện tích của các dạng đồng phân β -caroten thì mẫu phải được phân tích theo hệ thống HPLC B sử dụng cột C30.

a) Điều kiện cho hệ thống HPLC A (4.13):

— nhiệt độ buồng cột: 30 °C;

TCVN 11067:2016

- nhiệt độ bộ bơm mẫu: 15 °C;
- tốc độ dòng pha động (xem 3.17): 0,6 ml/min;
- thể tích bơm mẫu: 20 µl;
- áp suất: khoảng 33 bar;
- bước sóng phát hiện: 448 nm;
- thời gian lưu: khoảng 30 min.

b) Điều kiện cho hệ thống HPLC B (4.13):

- nhiệt độ buồng cột: 30 °C;
- nhiệt độ bộ bơm mẫu: 15 °C;
- thể tích bơm mẫu: 20 µl;
- áp suất: từ 40 bar đến 80 bar;
- bước sóng phát hiện: 445 nm;
- thời gian lưu: khoảng 65 min.
- pha động (xem 3.18) theo chế độ gradient:

Thời gian, min	% kênh 1	% kênh 2	Tốc độ dòng, ml/min
từ 0 đến 57	100	0	0,9
từ 57 đến 60	0	100	2,0
từ 60 đến 65	100	0	0,9

6.3.2 Kiểm tra hệ thống HPLC

Đo nồng độ β -caroten ban đầu trong dung dịch kiểm soát (3.19) sau khi hệ thống HPLC đã cân bằng. Tiến hành bơm song song với dung dịch chuẩn ít nhất 6 lần, mỗi lần 20 µl vào hệ thống HPLC.

Tính nồng độ trung bình của β -caroten trong dung dịch kiểm soát từ các kết quả trên sắc đồ dựa vào hệ số đáp ứng vừa mới xác định. Sau đó bơm dung dịch kiểm soát cùng với mỗi dãy dịch chiết mẫu thử cần xác định. Hệ số đáp ứng xem như là một hằng số ổn định với mỗi lần đo nồng độ β -caroten trong dung dịch kiểm soát không lệch quá 2 % so với giá trị lúc ban đầu.

Hệ thống HPLC cần được cân bằng lại nếu hàm lượng β -caroten đo được vượt quá khoảng giới hạn sai số.

6.3.3 Dựng đường chuẩn

Bơm dãy các dung dịch chuẩn làm việc trong 3.20 vào hệ thống HPLC và tính nồng độ β -caroten theo 6.1.

Dựng đường chuẩn theo nồng độ β -caroten và tổng diện tích các pic đồng phân của β -caroten.

Hệ số tương quan hồi quy cho đường chuẩn tuyến tính với nồng độ β -caroten trong khoảng từ 0,1 $\mu\text{g/ml}$ đến 50 $\mu\text{g/ml}$ phải thoả mãn yêu cầu $R^2 \geq 0,995$ và nồng độ tính ngược lại từ đường chuẩn phải nằm trong khoảng $\pm 10\%$ so với lý thuyết.

6.3.4 Phân tích mẫu

Bơm mẫu thử với cùng điều kiện như bơm mẫu chuẩn.

Dựa vào đường chuẩn, xác định hàm lượng β -caroten có trong mẫu.

Nếu diện tích pic hoặc chiều cao pic của mẫu lớn hơn diện tích pic hoặc chiều cao pic của chất chuẩn cao nhất, thì phải tiến hành pha loãng mẫu và bơm lại.

7 Tính kết quả

Tính hàm lượng β -caroten có trong mẫu, X , được biểu thị bằng miligam trên 100 g ($\text{mg}/100\text{ g}$), theo công thức sau đây:

$$X = C_m \times \frac{V}{m \times 10} \times D$$

trong đó:

V là thể tích dịch cuối, tính bằng millilit (ml);

C_m là nồng độ β -caroten trong dung dịch mẫu bơm máy, tính bằng microgam trên millilit ($\mu\text{g/ml}$);

M là khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam (g);

D là hệ số pha loãng;

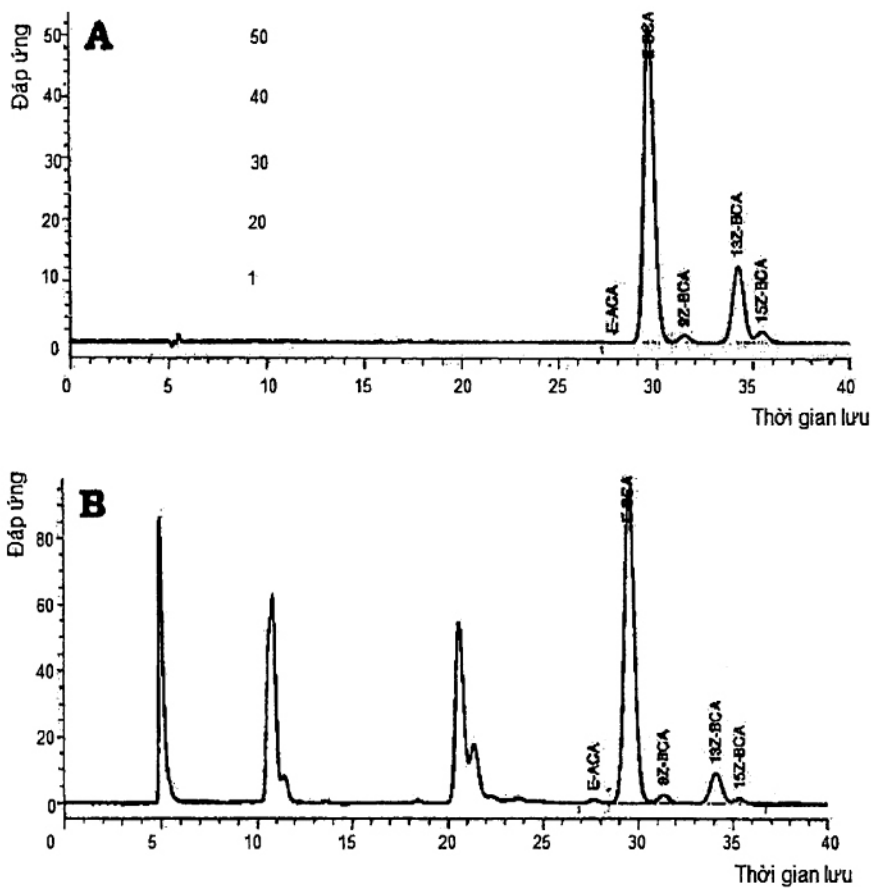
10 là hệ số chuyển đổi từ $\mu\text{g/g}$ sang $\text{mg}/100\text{ g}$.

8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

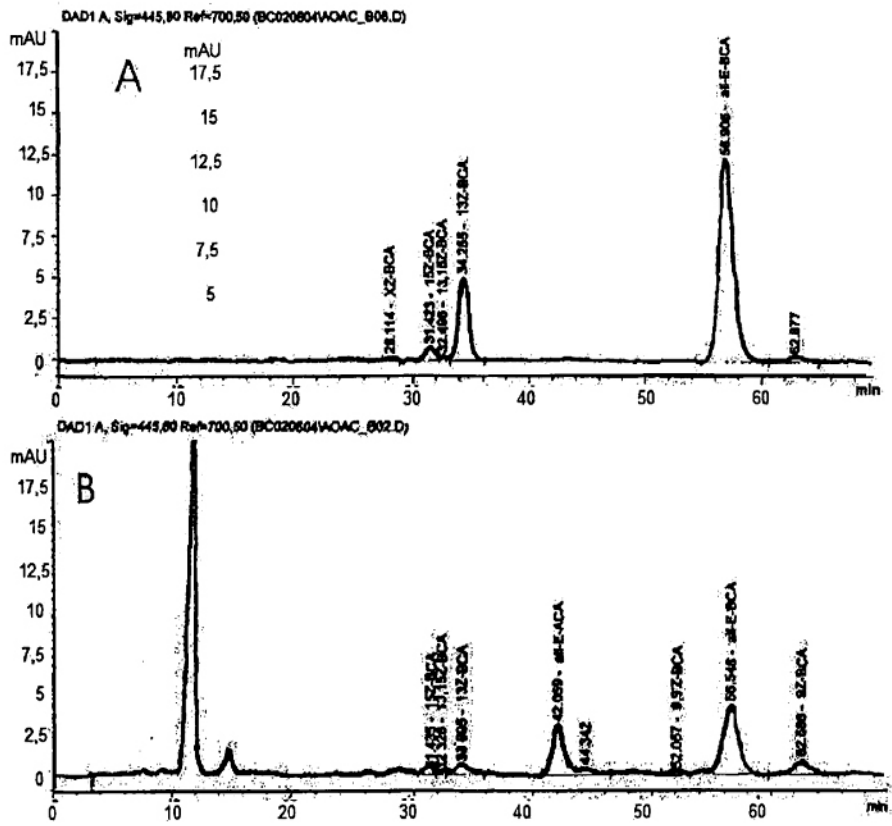
- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được;
- nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)
Ví dụ về sắc đồ



(A): mẫu kiểm soát, (B): mẫu viên nang bổ sung các vitamin

Hình A.1 – Sắc đồ sử dụng hệ thống A



(A): mẫu kiểm soát, (B): mẫu viên nang mềm

Hình A.2 – Sắc đồ sử dụng hệ thống B

Phụ lục B
(Tham khảo)
Kết quả thử liên phòng thử nghiệm

Bảng B.1 – Kết quả thử nghiệm liên phòng xác định tổng β -caroten

Số hiệu mẫu	Nền mẫu	Đơn vị	Trung bình	S_r	S_R	$RSD_r, \%$	$RSD_R, \%$	r	R	Chỉ số HorRat
101, 114	Viên nang chứa β -caroten và lycopene	mg/viên	0,527	0,032	0,052	6,17	9,88	0,091	0,146	Xem Bảng 3
102, 120	Viên nang, β -caroten từ tinh dầu cà rốt	mg/g	0,505	0,053	0,072	10,52	14,29	0,148	0,202	2,28
103, 118	Viên nén đa vitamin	mg/g	0,535	0,122	0,124	22,88	23,09	0,343	0,346	3,72
104, 112	Viên nang, β -caroten từ đậu nành	mg/viên	15,68	1,05	1,19	6,70	7,60	2,94	3,33	Xem Bảng 3
105, 109	Viên nang, β -caroten từ dầu không rõ nguồn gốc	mg/viên	6,65	0,061	0,081	9,09	12,04	1,69	2,24	Xem Bảng 3
106, 110	Viên giả dược	mg/g	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
107, 119	Nguyên liệu thô dạng hạt	mg/g	196	11	24	5,39	12,3	9,57	67,43	4,81
108, 116	Viên nén đa vitamin và chất khoáng	mg/g	0,516	0,019	0,034	3,68	6,61	0,053	0,095	1,06
111, 121	Viên nang, β -caroten trong dầu cá	mg/viên	0,056	0,0041	0,0076	7,23	13,56	0,011	0,021	Xem Bảng 3
113, 117	Viên nén	mg/g	49	3	3,6	6,22	7,31	8,53	10,03	2,32
115, 122	Viên nang bổ sung vitamin A,E	mg/g	15,19	1,10	1,1	7,25	7,25	3,09	3,09	Xem Bảng 3
2-1, 2-4	Viên nang chứa carotenoid	mg/g	16,92	0,44	0,87	2,60	4,87	1,23	2,31	Xem Bảng 3
2-2, 2-3	Viên nang chứa carotenoid	mg/g	3,55	0,029	0,32	0,82	9,10	0,081	0,90	Xem Bảng 3

CHÚ THÍCH:

NA không có dữ liệu;

S_r và S_R tương ứng là độ lệch chuẩn lặp lại và độ lệch chuẩn tái lập;

RSD_r và RSD_R tương ứng là độ lệch chuẩn tương đối lặp lại và độ lệch chuẩn tương đối tái lập;

r và R tương ứng là giới hạn lặp lại và giới hạn tái lập.

Bảng B.2 – Kết quả thử nghiệm liên phòng xác định all-trans- β -caroten

Số hiệu mẫu	Nền mẫu	Đơn vị	Trung bình	S_r	S_R	$RSD_r, \%$	$RSD_R, \%$	r	R	Chỉ số HorRat
101, 114	Viên nang chứa β -caroten và lycopene	mg/viên	0,360	0,0281	0,0552	7,81	15,35	0,0787	0,155	Xem Bảng 4
102, 120	Viên nang β -caroten từ tinh dầu cà rốt	mg/g	0,288	0,0115	0,037	5,39	12,91	0,043	0,104	1,89
103, 118	Viên nén đa vitamin	mg/g	0,31	0,06	0,07	19,25	22,76	0,167	0,197	3,37
104, 112	Viên nang, β -caroten từ đậu nành	mg/viên	14,8	1,05	1,36	7,09	9,20	2,93	3,80	Xem Bảng 4
105, 109	Viên nang, β -caroten từ dầu không rõ nguồn gốc	mg/viên	6,23	0,0535	0,572	8,58	9,19	1,50	1,60	Xem Bảng 4
106, 110	Viên giả dược	mg/g	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
107, 119	Nguyên liệu thô dạng hạt	mg/g	152	11	19	7,1	12,7	30	54	4,8
108, 116	Viên nén đa vitamin và chất khoáng	mg/g	0,432	0,015	0,026	3,36	5,93	0,041	0,072	0,92
111, 121	Viên nang, β -caroten trong dầu cá	mg/viên	0,0359	0,0035	0,0011	9,81	31,0	0,0098	0,0312	Xem Bảng 4
113, 117	Viên nén	mg/g	38,2	2,7	3	7,07	7,82	7,57	8,37	2,39
115, 122	Viên nang bổ sung vitamin A, E	mg/g	14,33	0,0832	0,832	5,81	5,61	2,33	2,33	1,53
2-1, 2-4	Viên nang chứa carotenoid	mg/g	15,50	0,0257	0,868	1,66	5,60	0,720	2,43	Xem Bảng 4
2-2, 2-3	Viên nang chứa carotenoid	mg/g	2,58	0,031	0,228	1,20	8,84	0,0867	0,639	Xem Bảng 4

CHÚ THÍCH:

NA không có dữ liệu;

 s_r và s_R tương ứng là độ lệch chuẩn lặp lại và độ lệch chuẩn tái lập; RSD_r và RSD_R tương ứng là độ lệch chuẩn tương đối lặp lại và độ lệch chuẩn tương đối tái lập; r và R tương ứng là giới hạn lặp lại và giới hạn tái lập.

Bảng B.3 – Kết quả thử nghiệm liên phòng xác định tổng β -caroten

Số hiệu mẫu	RSD _R ban đầu, %	RSD _R của lượng chứa trong viên nang, %	RSDS _R , %	Khối lượng trung bình viên, g	Nồng độ β - caroten, g/viên	RSD _R kỉ vọng	Chỉ số Horat hiệu chỉnh
101, 114	9,88	0,54	9,57	0,7586	0,000695	5,98	1,60
104, 112	7,60	1,23	6,89	0,3339	0,04696	3,17	2,17
105, 109	12,04	2,33	10,69	0,2554	0,0264	3,46	3,09
111, 121	13,56	1,61	12,63	1,1225	0,000049	8,88	1,42
115, 122	6,33	2,65	4,80	0,2353	0,06366	3,03	1,59
2-1, 2-4	4,87	1,52	3,35	0,5173	0,0327	3,35	1,19
2-2, 2-3	9,10	0,50	8,81	0,5613	0,00632	4,29	2,06
CHÚ THÍCH: RSD_R độ lệch chuẩn tương đối tái lập; PRSD_R độ lệch chuẩn tương đối tái lập dự đoán.							

Bảng B.4 – Kết quả thử nghiệm liên phòng xác định all-trans- β -caroten

Số hiệu mẫu	RSD _R ban đầu, %	RSD _R của lượng chứa trong viên nang, %	RSDS _R , %	Khối lượng trung bình viên, g	Nồng độ β- caroten, g/viên	RSD _R kì vọng	Chỉ số Horat hiệu chỉnh
101, 114	15,35	0,54	15,04	0,7586	0,000475	6,33	2,38
104, 112	9,20	1,23	8,49	0,3339	0,044325	3,20	2,66
105, 109	9,19	2,33	7,84	0,2554	0,024393	3,50	2,24
111, 121	14,08	1,61	13,15	1,1225	0,0000292	9,50	1,37
115, 122	5,81	2,65	4,28	0,2353	0,060901	3,05	1,40
2-1, 2-4	4,60	1,52	4,72	0,5173	0,029963	3,39	1,39
2-2, 2-3	3,84	0,50	8,55	0,5613	0,004596	4,50	1,90

CHÚ THÍCH:
RSD_R độ lệch chuẩn tương đối tái lập;
PRSD_R độ lệch chuẩn tương đối tái lập dự đoán.