

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 13263-2:2020

Xuất bản lần 1

PHÂN BÓN –

**PHẦN 2: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG VITAMIN NHÓM B
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO**

*Fertilizers – Part 2: Determination of vitamin B group content by high performance liquid
chromatographic method*

HÀ NỘI - 2020

Lời nói đầu

TCVN 13263-2 : 2020 do Cục Bảo vệ thực vật biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Phân bón – Phần 2: Xác định hàm lượng vitamin nhóm B bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Fertilizers –Part 2: Determination of vitamin B group by high performance liquid chromatographic method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng vitamin nhóm B (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉, B₁₂) trong phân bón bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC).

Thông tin giới thiệu hoạt chất vitamin nhóm B xem Phụ lục A.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là 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 tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi (nếu có).

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

TCVN 10683 : 2015, *Phân bón rắn - Phương pháp chuẩn bị mẫu để xác định các chỉ tiêu hóa học và vật lý*

3 Nguyên tắc

Các vitamin nhóm B trong phân bón được chiết bằng nước có tính kiềm nhẹ. Sau đó được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với detector tử ngoại (DAD, MWD, PDA,... hoặc tương đương), cột pha đảo. Các chất được nhận biết dựa vào thời gian lưu và được xác định bằng phương pháp đường chuẩn.

TCVN 13263-2 : 2020

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, nước dùng trong quá trình phân tích đạt loại 3 của TCVN 4851 (ISO 3696) hoặc có độ tinh khiết tương đương, sau đây gọi là nước.

4.1 Chất chuẩn thiamine hydrochloride (vitamin B₁), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.2 Chất chuẩn riboflavin (vitamin B₂), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.3 Chất chuẩn nicotinamide (vitamin B₃), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.4 Chất chuẩn D-pantothenic acid (vitamin B₅), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.5 Chất chuẩn pyridoxine hydrochloride (vitamin B₆), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.6 Chất chuẩn axit folic (vitamin B₉), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.7 Chất chuẩn cyanocobalamin (vitamin B₁₂), đã biết hàm lượng, được chứng nhận.

4.8 Axetonitril (C₂H₃N), dùng cho sắc ký lỏng.

4.9 Metanol (CH₄O), dùng cho sắc ký lỏng.

4.10 Amoniac (NH₃), dùng cho sắc ký lỏng.

4.11 Axit axetic băng (C₂H₄O₂), dùng cho sắc ký lỏng.

4.12 Dung dịch axit axetic, nồng độ khoảng 1% theo thể tích

Dùng pipet (5.3) lấy 10 ml axit axetic băng (4.11) cho vào cốc dung tích 2000 ml (5.1) có chứa sẵn 990 ml nước. Siêu âm 10 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.13 Muối natri 1-octan sulfonic acid, dùng cho sắc ký lỏng.

4.14 Triethylamine (N(CH₂CH₃)₂), dùng cho sắc ký lỏng.

4.15 Kali dihydro phosphat (KH₂PO₄), dùng cho sắc ký lỏng.

4.16 Axit phosphoric (H₃PO₄), dùng cho sắc ký lỏng.

4.17 Dung môi chiết mẫu

4.18 Dung dịch chuẩn gốc**4.18.1 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₁, nồng độ khoảng 1000 ppm**

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn thiamine hydrochloride (4.1), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.18.2 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₂, nồng độ khoảng 100 ppm

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn riboflavin (4.2), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 100 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.18.3 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₃, 1000 mg/l

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn nicotinamide (4.3), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.18.4 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₅, nồng độ khoảng 1000 mg/L

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn D-pantothenic acid (4.4), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.18.5 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₆, nồng độ khoảng 1000 mg/L

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn pyridoxine hydrochloride (4.5), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.18.6 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₉, nồng độ khoảng 1000 mg/L

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn axit folic (4.6), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), thêm 0,2 ml dung dịch amoniac (4.10), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.18.7 Dung dịch chuẩn gốc vitamin B₁₂, nồng độ khoảng 1000 ppm

TCVN 13263-2 : 2020

Dùng cân phân tích (5.7) cân khoảng 0,01 g chất chuẩn cyanocobalamin (4.7), chính xác đến 0,00001 g vào bình định mức dung tích 10 ml (5.2), hoà tan và định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.19 Dung dịch chuẩn hỗn hợp trung gian

4.19.1 Dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₁, nồng độ khoảng 100 ppm

Dùng pipet (5.3) hút chính xác 5 ml dung dịch chuẩn gốc vitamin B₁ (4.18.1) vào bình định mức dung tích 50 ml (5.2), định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.19.2 Dung dịch chuẩn trung gian vitamin B₅, nồng độ khoảng 10 ppm

Dùng pipet (5.3) hút chính xác 5 ml dung dịch chuẩn gốc B₅ (4.18.4) vào bình định mức dung tích 50 ml (5.2), định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.19.3 Dung dịch chuẩn hỗn hợp trung gian vitamin B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂

Dùng pipet (5.3) hút V ml các dung dịch chuẩn gốc ở mục (4.18) vào bình định mức dung tích 20ml (5.2) theo bảng 1 sau đó thêm 0,2 ml amoniac (4.10), định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng. Nồng độ chuẩn trung gian các vitamin B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂ được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1: Nồng độ tương đối dung dịch chuẩn trung gian các vitamin B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂

Chuẩn gốc	Pipet (ml)	Bình định mức, ml	Nồng độ tương đối (ppm)
Vitamin B ₂	5	20	25
Vitamin B ₃	1		50
Vitamin B ₆	2		100
Vitamin B ₉	0,5		25
Vitamin B ₁₂	2		100

4.20 Dây dung dịch chuẩn làm việc

4.20.1 Dây dung dịch chuẩn làm việc vitamin B₁, nồng độ khoảng 5; 10; 15; 20; 50 ppm

Dùng pipet (5.3) hút chính xác 1; 2; 4; 6; 8 ml dung dịch chuẩn trung gian B₁ (4.19.1) vào lần lượt 5 bình định mức dung tích 20 ml, định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.20.2 Dãy dung dịch chuẩn làm việc vitamin B₅, nồng độ khoảng 5; 10; 15; 20; 50 ppm

Dùng pipet (5.3) hút chính xác 1; 2; 4; 6; 8 ml dung dịch chuẩn trung gian B₅ (4.19.2) vào lần lượt 5 bình định mức dung tích 20 ml, định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

4.20.3 Dãy dung dịch chuẩn làm việc vitamin B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂

Dùng pipet (5.3) hút chính xác lần lượt 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 5 ml; 8 ml dung dịch chuẩn trung gian (4.19.3) vào lần lượt 5 bình định mức dung tích 10 ml, định mức đến vạch bằng nước, siêu âm trong 5 min, để nguội đến nhiệt độ phòng.

Nồng độ dung dịch chuẩn làm việc các vitamin B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂ được thể hiện trong bảng 2.

Bảng 2: Nồng độ tương đối của dung dịch chuẩn làm việc các vitamin B₂, B₃, B₆, B₉, B₁₂

Nồng độ dung dịch chuẩn làm việc (ppm)				
Vitamin B ₂	Vitamin B ₃	Vitamin B ₆	Vitamin B ₉	Vitamin B ₁₂
1,25	2,5	5	1,25	5
2,5	5	10	2,5	10
5,0	10	20	5,0	20
12,5	25	50	12,5	50
20	40	80	20	80

4.21 Dung dịch đệm phân tích vitamin B₁

Dùng cân kỹ thuật (5.8) cân khoảng 1,08 g muối natri 1-octan sulfonic acid (4.13) chính xác đến 0,001 g vào cốc dung tích 2000 ml (5.1), thêm 1000 ml nước, sau đó thêm 1 ml triethylamine (4.14) rồi điều chỉnh về pH 2,8 bằng axit phosphoric (4.16).

4.22 Dung dịch đệm phân tích vitamin B₅

Dùng cân kỹ thuật (5.8) cân khoảng 1,08 g muối natri 1-octan sulfonic acid (4.13) và 1,36 g kali dihydro phosphat (4.15) chính xác đến 0,001 g vào cốc dung tích 2000 ml (5.1) thêm 940 ml nước, sau đó thêm 5 ml triethylamine (4.14) rồi điều chỉnh về pH 3 bằng axit phosphoric (4.16).

CHÚ THÍCH 1:

- 1) Dung dịch chuẩn được lưu giữ trong bình tối màu và bảo quản mát từ 2 °C đến 4 °C
- 2) Dung dịch chuẩn gốc nên sử dụng trong vòng một tháng kể từ khi pha, dung dịch chuẩn làm việc nên dùng ngay sau khi pha loãng
- 3) Phải kiểm tra đánh giá chuẩn trước khi sử dụng
- 4) Nếu sử dụng cân có độ chính xác 0,0001 gram thì lượng cân của chuẩn và mẫu phải tăng lên 10 lần

5 Thiết bị, dụng cụ

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

- 5.1 Cốc thủy tinh, dung tích 2000 ml.
- 5.2 Bình định mức, dung tích 10 ml; 20 ml; 50ml; 100 ml.
- 5.3 Pipet chia vạch, dung tích 0,5 ml; 1 ml; 2 ml; 5 ml; 10 ml.
- 5.4 Xyranh bơm mẫu, dung tích 50 μ l, chia vạch đến 1 μ l. hoặc bơm mẫu tự động
- 5.5 Màng lọc xyranh PTFE, có đường kính lỗ 0,45 μ m.
- 5.6 Bể siêu âm, tần số siêu âm từ 40 kHz đến 100 kHz
- 5.7 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,0001 g và 0,00001 g.
- 5.8 Cân kỹ thuật, có độ chính xác đến 0,001 g
- 5.9 Máy đo pH, khoảng đo pH: từ 0,0 đến 14,0, độ phân giải: 0,1 pH
- 5.10 Cối nghiền mẫu, bằng sứ hoặc vật liệu tương đương
- 5.11 Xyranh lọc mẫu, dung tích 1 ml dùng cho màng lọc xyranh PTFE (5.5)
- 5.12 Thiết bị lọc

Dùng được cho màng lọc dung môi đường kính 13 mm, đường kính lỗ 0,45 μ m để lọc dung môi pha động của HPLC

CHÚ THÍCH 2: Lọc dung môi pha động qua màng lọc trước khi dùng để kéo dài thời gian sử dụng của cột.

5.12 Thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao, được trang bị như sau:

- Detector tử ngoại (DAD, MWD, PDA,... hoặc tương đương);
- Hệ thống bơm cao áp;
- Buồng điều nhiệt cột tách;
- Máy tích phân hoặc máy vi tính;
- Cột RP C18, dài 250 mm, đường kính 4,6 mm, cỡ hạt pha tĩnh 5 μ m hoặc loại tương đương;
- Bộ bơm mẫu tự động hoặc bơm mẫu bằng tay.

6 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

6.1 Lấy mẫu

Đối với mẫu phân bón thường, lấy mẫu theo TCVN 9486 : 2018. Đối với mẫu phân bón vi sinh, lấy mẫu theo TCVN 12105 : 2018

6.2 Chuẩn bị mẫu

- Nghiền mẫu bằng cối sứ hoặc vật liệu tương đương và trộn lại. Cần thực hiện các biện pháp như làm lạnh sơ bộ trước khi nghiền mẫu để tránh mẫu bị tiếp xúc với nhiệt độ cao trong thời gian dài.
- Chuẩn bị mẫu trong điều kiện tránh trực tiếp ánh sáng mặt trời

6.2.1 Mẫu dạng rắn

Mẫu dạng rắn được chuẩn bị theo TCVN 10683 : 2015.

6.2.2 Mẫu dạng lỏng, huyền phù

Mẫu dạng lỏng, dạng huyền phù thì phải lắc đồng nhất trước khi cân.

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị dung dịch mẫu thử

Dùng cân phân tích (5.7) cân 2 phần mẫu thử mỗi phần khoảng 2 g, chính xác đến 0,0001 g cho vào bình định mức 20 ml (5.2), định mức đến vạch bằng dung môi chiết mẫu (4.17). Đặt vào bể siêu âm (5.6), siêu âm 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc qua màng lọc xyranh PTFE 0,45 μm (5.5) trước khi bơm vào thiết bị.

7.2 Điều kiện phân tích

Các điều kiện vận hành sắc ký sau đây được cho là thích hợp:

7.2.1 Điều kiện phân tích vitamin B1

Pha động:	Metanol (4.9) : Đệm (4.21) = 55 : 45 (theo thể tích)
Bước sóng:	254 nm
Tốc độ dòng:	1 mL/min
Thể tích bơm mẫu:	10 μl
Nhiệt độ buồng cột:	25 °C

TCVN 13263-2 : 2020

7.2.2 Điều kiện phân tích vitamin B5

Pha động: Metanol (4.9) : Đệm (4.22) = 30 : 70 (theo thể tích)

Bước sóng: 210 nm

Tốc độ dòng: 1 mL/min

Thể tích bơm mẫu: 20 μ l

Nhiệt độ buồng cột: 25 °C

7.2.3 Điều kiện phân tích vitamin B2, B3, B6, B9, B12

Tỷ lệ pha động:

t (min)	Metanol (4.9) (% theo thể tích)	Axit axetic 1% (4.12) (% theo thể tích)
0	3	97
7	3	97
10	70	30
17	3	97

Bước sóng: 270 nm

Tốc độ dòng: 1 mL/min

Thể tích bơm mẫu: 20 μ l

Nhiệt độ buồng cột: 25 °C

7.3 Dựng đường chuẩn

Dựng đường chuẩn (tương quan giữa diện tích pic và nồng độ chất chuẩn) của vitamin tại 5 điểm có nồng độ tương ứng dung dịch chuẩn làm việc (4.20).

7.4 Xác định

Dùng xyranh (5.4) bơm 1 dung dịch chuẩn có nồng độ thấp nhất trong dãy dung dịch chuẩn làm việc (4.20) cho đến khi số đo diện tích của pic mẫu chuẩn thay đổi không lớn hơn 3 %. Sau đó, bơm lần lượt các dung dịch chuẩn làm việc (4.20) nồng độ từ thấp đến cao và dung dịch mẫu thử (7.1). Nếu nồng độ của mẫu thử nằm ngoài đường chuẩn thì điều chỉnh bằng cách pha loãng dung dịch mẫu thử bằng nước.

7.4 Xác định

Dùng xyranh (5.4) bơm 1 dung dịch chuẩn có nồng độ thấp nhất trong dãy dung dịch chuẩn làm việc (4.20) cho đến khi số đo diện tích của pic mẫu chuẩn thay đổi không lớn hơn 3 %. Sau đó, bơm lần lượt các dung dịch chuẩn làm việc (4.20) nồng độ từ thấp đến cao và dung dịch mẫu thử (7.1). Nếu nồng độ của mẫu thử nằm ngoài đường chuẩn thì điều chỉnh bằng cách pha loãng dung dịch mẫu thử bằng nước.

8 Tính kết quả

Hàm lượng của từng loại vitamin B trong mẫu, X_i , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức thức 1:

$$X_i = X_{0i} \times \frac{V}{m} \times p_i \quad (1)$$

Hàm lượng vitamin B tổng số trong mẫu, X , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức 2:

$$X = \frac{V}{m} \times \left(\sum X_{0i} \times p_i \right) \quad (2)$$

trong đó:

X_{0i} là nồng độ của vitamin B_i trong mẫu tính theo đường chuẩn, tính bằng miligam trên lít (mg/l);

V là thể tích dung môi chiết mẫu mililit (ml)

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

P_i là độ tinh khiết của chất chuẩn

Kết quả thử nghiệm thu được, lấy hai chữ số sau dấu phẩy.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc những điều được coi là tự chọn, và bất kỳ chi tiết nào có ảnh hưởng tới kết quả;

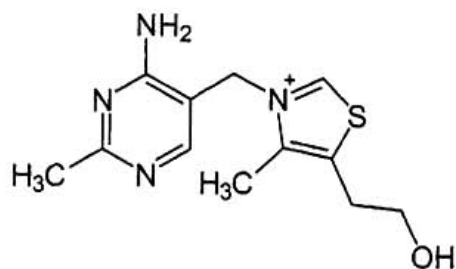
Phụ lục A

(Tham khảo)

Thông tin về hoạt chất vitamin B

A.1 Giới thiệu hoạt chất vitamin B1

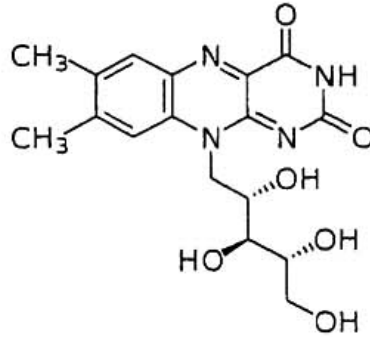
- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: 3-((4-Amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl)-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazolium chloride
- Công thức phân tử: $C_{12}H_{17}N_4OS$
- Khối lượng phân tử: 265,35
- Độ hòa tan: Tan trong nước; metanol; glycerol, không tan trong dung môi hữu cơ không phân cực.

A.2 Giới thiệu hoạt chất vitamin B2

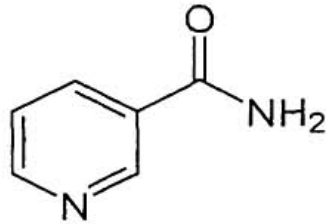
- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: 7,8-Dimethyl-10-[(2S,3S,4R)-2,3,4,5 tetrahydroxypentyl]benzo[g]pteridine-2,4-dione
- Công thức phân tử: $C_{17}H_{20}N_4O_6$
- Khối lượng phân tử: 376,37
- Dạng bề ngoài: Tinh thể màu da cam.

A.3 Giới thiệu hoạt chất vitamin B3

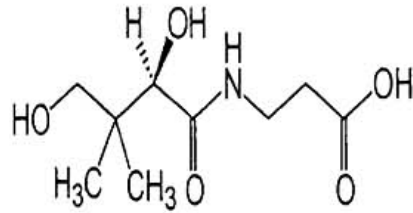
- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: pyridine-3-carboxamide
- Công thức phân tử: C₆H₆N₂O
- Khối lượng phân tử: 122,13
- Nhiệt độ nóng chảy: 129,5 °C
- Độ hòa tan trong nước: 18 g/L (20°C)
- Dạng bề ngoài: Tinh thể trong suốt, màu trắng.

A.4 Giới thiệu hoạt chất vitamin B5

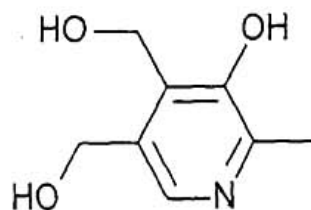
- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: 3-[(2*R*)-(2,4-Dihydroxy-3,3-dimethylbutanoyl)amino]propanoic acid
- Công thức phân tử: $C_9H_{17}NO_5$
- Khối lượng phân tử: 219,24
- Nhiệt độ nóng chảy: 183,83 °C
- Độ hòa tan trong nước: 2110 g/L
- Tan tốt trong benzen, ether. Ít tan trong alcohol, chloroform
- Dạng bề ngoài: Dạng dầu màu vàng; tinh thể không màu.

A.5 Giới thiệu hoạt chất vitamin B6

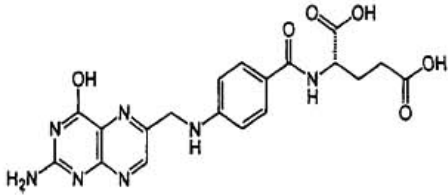
- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: 4,5-Bis(hydroxymethyl)-2-methylpyridin-3-ol
- Công thức phân tử: $C_8H_{11}NO_3$
- Khối lượng phân tử: 169,18
- Nhiệt độ nóng chảy: 159-162 °C
- Độ hòa tan: Tan tốt trong nước

A.6 Giới thiệu hoạt chất vitamin B9

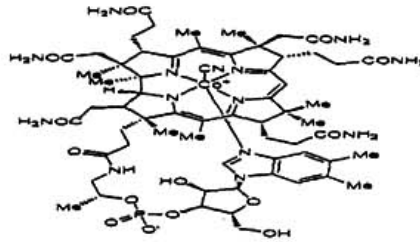
- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: (2S)-2-[[4-[(2-amino-4-oxo-3H-pteridin-6-yl)methylamino]benzoyl]amino]pentanedioic acid
- Công thức phân tử: $C_{19}H_{19}N_7O_6$
- Khối lượng phân tử: 441,4
- Nhiệt độ nóng chảy: $250^{\circ}C$
- Độ hòa tan trong nước: 85 g/L
Không tan trong ethanol, ether, acetone
- Dạng bề ngoài: Bột, tinh thể, màu vàng cam

A.7 Giới thiệu hoạt chất vitamin B12

- Công thức cấu tạo:



- Tên hóa học: α -(5,6-Dimethylbenzimidazolyl)cobamidcyanide
- Công thức phân tử: $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$
- Khối lượng phân tử: 1355,38
- Nhiệt độ nóng chảy: 300 °C
- Độ hòa tan trong nước: 12,5 g/L
- Độ bền: Bền trong bóng tối và nhiệt độ thường, dễ phân hủy ngoài ánh sáng
- Dạng bề ngoài: Tinh thể màu đỏ, không mùi vị

A.8 Hiệu suất thu hồi và giới hạn định lượng

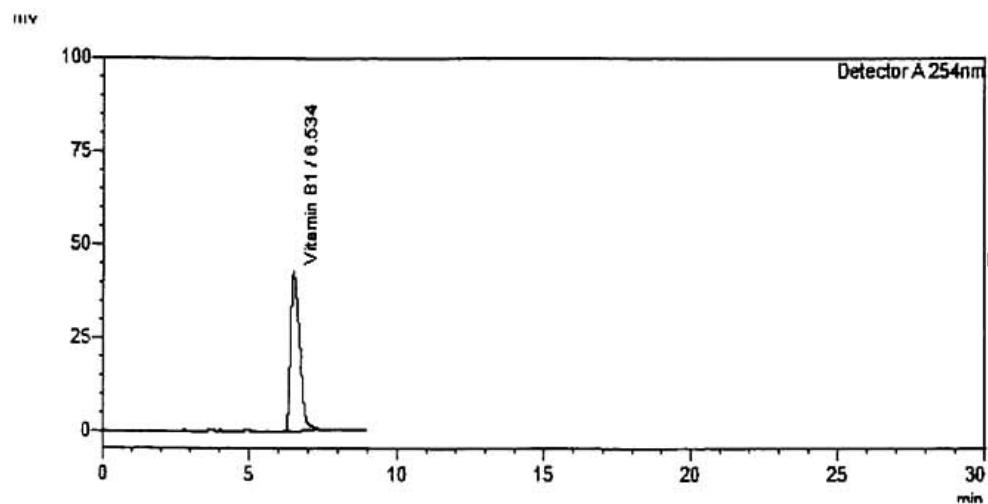
- Hiệu suất thu hồi của phương pháp: từ 70 % đến 120 %.
- Giới hạn định lượng của phương pháp (LOQ):
 - Vitamin B1: 50 mg/kg
 - Vitamin B2: 20 mg/kg
 - Vitamin B3: 50 mg/kg
 - Vitamin B5: 50 mg/kg
 - Vitamin B6: 50 mg/kg
 - Vitamin B9: 20 mg/kg
 - Vitamin B12: 50 mg/kg
- Độ lặp lại của phương pháp, CV ≤ 5%.

Phụ lục B

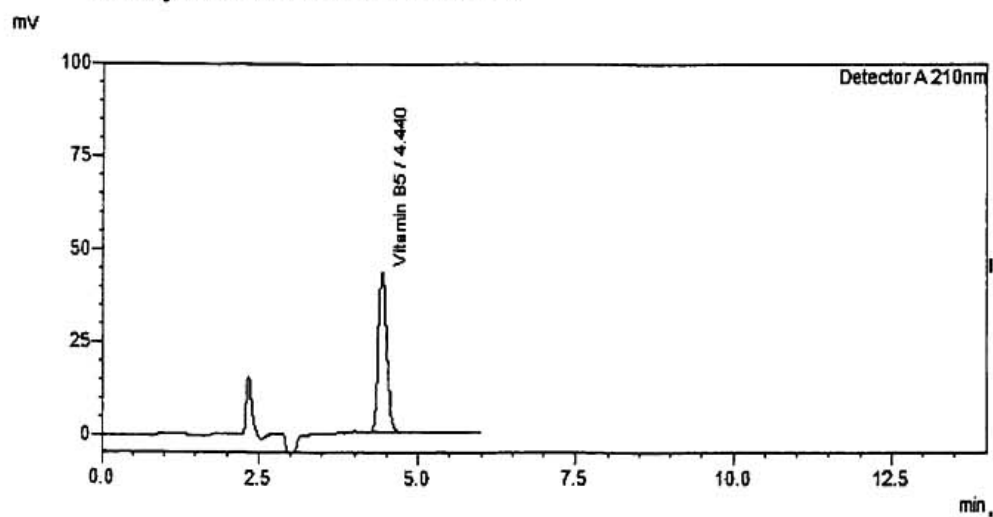
(Tham khảo)

Thông tin về sắc ký đồ điển hình của vitamin B

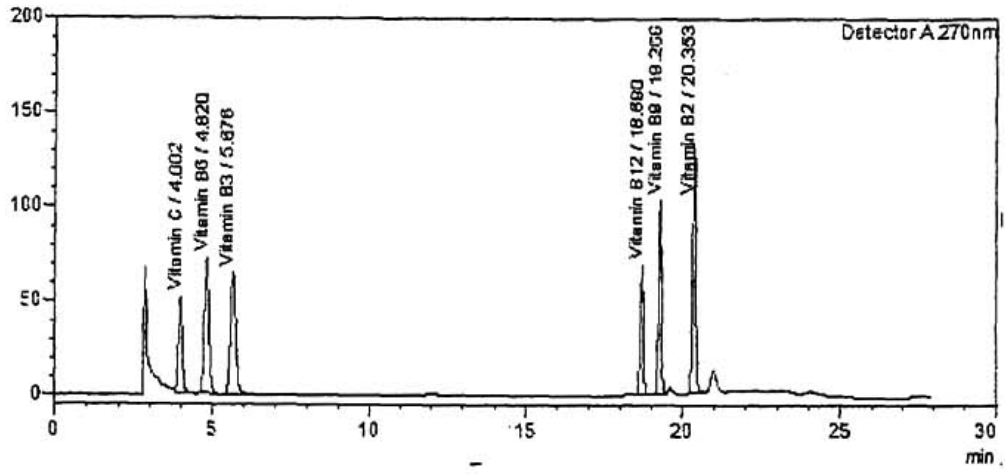
- Sắc ký đồ điển hình của vitamin B1



- Sắc ký đồ điển hình của vitamin B5



Sắc ký đồ điện hình của vitamin B2, B6, B9, B12 và C



Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 9486 : 2018, *Phân bón- Lấy mẫu*
 - [2] TCVN 12105 : 2018, *Phân bón vi sinh vật- Lấy mẫu*
 - [3] Determination of Water Soluble Vitamins [(B group: B1, B2, and B6) by RP- HPLC, Dr. Ramla Abdullah, Chemistry and Materials Research
 - [4] RP-HPLC Determination of vitamins B1, B3, B6, folic acid and B12 in multivitamin tablets, Rada Amid@I, Jasmina Brboric, J. Serb. Chem. Soc. 70 (10) 1229–1235 (2005)
-