

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9959:2013

**PHỤ GIA THỰC PHẨM - CHẤT TẠO MÀU -  
ETYL ESTE CỦA AXIT B - APO - 8' - CAROTENOIC**

*Food additives - Colours -  $\beta$  - Apo - 8' - Carotenoic acid ethyl ester*

HÀ NỘI - 2013

## Lời nói đầu

TCVN 9959:2013 được xây dựng dựa trên cơ sở JECFA Monograph 11 (2011), *Compendium of Food Additive Specifications*;

TCVN 9959:2013 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 - Etyl este của axit $\beta$ -apo-8'-carotenoic

*Food additives - Colours -  $\beta$ -apo-8'-carotenoic acid ethyl ester*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này áp dụng cho chất tạo màu etyl este của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic được sử dụng làm phụ gia thực phẩm.

CHÚ THÍCH: Lượng ăn vào hàng ngày chấp nhận được (ADI), tính theo tổng của các carotenoid gồm  $\beta$ -caroten,  $\beta$ -apo-8'-carotenal và các dạng metyl, etyl ester của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic là từ 0 mg/kg đến 5 mg/kg thể trọng.

### 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 8900-2:2012, *Phụ gia thực phẩm – Xác định các thành phần vô cơ – Phần 2: Hao hụt khối lượng khi sấy, hàm lượng tro, chất không tan trong nước và chất không tan trong axit*

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 8900-7:2012, *Phụ gia thực phẩm – Xác định các thành phần vô cơ – Phần 7: Định lượng antimon, bari, cadimi, crom, đồng, chì và kẽm bằng đo phổ phát xạ nguyên tử plasma cảm ứng cao tần (ICP-AES)*

## TCVN 9959:2013

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

### 3 Mô tả

3.1 Chế phẩm etyl este của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic chủ yếu gồm các đồng phân *trans* của etyl este của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic (etyl este của axit all-*trans*- $\beta$ -apo-8'-carotenoic), có thể chứa lượng nhỏ all-*trans*- $\beta$ -apo-12'-carotenal, metyl-all-*trans*- $\beta$ -apo-8'-carotenoat, all-*trans*-etyl 4'-apo- $\beta$ -carotenat và all-*trans*- $\beta$ -caroten. Các chế phẩm etyl este của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic thương mại dùng cho thực phẩm có thể có dạng huyền phù trong dầu thực phẩm, dạng nhũ tương hoặc dạng bột có thể phân tán trong nước. Chế phẩm cũng có thể chứa các đồng phân *cis*.

### 3.2 Tên gọi

Tên hóa học: etyl este của axit all-*trans*- $\beta$ -apo-8'-carotenoic;  
etyl 8'-apo- $\beta$ -caroten-8'-oat;  
etyl (2*E*, 4*E*, 6*E*, 8*E*, 10*E*, 12*E*, 14*E*, 16*E*)-2,6,11,15-tetrametyl-17-(2,6,6-trimethylcyclohexen-1-yl)heptadeca-2,4,6,8,10,12,14,16-octaenoat

Tên khác: CI Food Orange 7; CI (1975) No. 40825

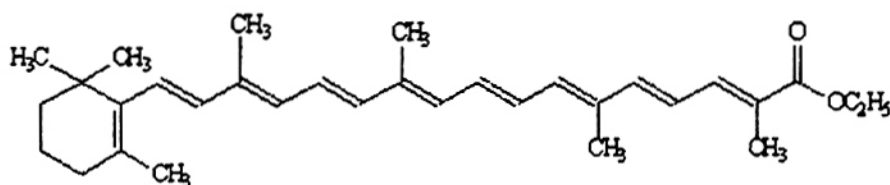
### 3.3 Kí hiệu

INS (mã số quốc tế về phụ gia thực phẩm): 160f

C.A.S (mã số hóa chất): 1109-11-1

3.4 Công thức hoá học:  $C_{32}H_{44}O_2$

3.5 Công thức cấu tạo (xem Hình 1)



Hình 1 – Công thức cấu tạo của etyl este của axit all-*trans*- $\beta$ -apo-8'-carotenoic (hợp chất chính)

3.6 Khối lượng phân tử: 460,70.

## 4 Các yêu cầu

### 4.1 Ngoại quan

Tinh thể hoặc bột tinh thể màu đỏ đến đỏ tím, nhạy với oxy và ánh sáng.

CHÚ THÍCH: Bảo quản chế phẩm trong bao bì tránh ánh sáng và môi trường khí trơ.

### 4.2 Độ hòa tan

Không tan trong nước, chỉ hơi tan trong etanol, rất ít tan trong dầu thực vật.

### 4.3 Phép thử carotenoid

Đạt yêu cầu của phép thử quy định trong 5.2.

### 4.4 Phép đo quang phổ

Đạt yêu cầu của phép thử quy định trong 5.3.

### 4.5 Các chỉ tiêu lí - hóa

Các chỉ tiêu lí - hóa của etyl este của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic theo quy định trong Bảng 1.

**Bảng 1 – Chỉ tiêu lí - hóa của etyl este của axit  $\beta$ -apo-8'-carotenoic**

Tên chỉ tiêu	Mức yêu cầu
1. Hàm lượng chất màu tổng số, % khối lượng, không nhỏ hơn	96
2. Hàm lượng chất màu phụ tính theo các carotenoid ngoại trừ etyl este của axit $\beta$ -apo-8'-carotenoic, % khối lượng so với chất màu tổng số, không lớn hơn	3
3. Hàm lượng tro sulfat, % khối lượng, không lớn hơn	0,1
4. 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 Phép thử carotenoid

Thêm lần lượt dung dịch natri nitrit 5 % và dung dịch axit sulfuric 0,5 M vào dung dịch mẫu thử trong axeton, dung dịch mẫu thử bị mất màu.

### 5.3 Phương pháp nhận biết bằng đo quang phổ

Xác định độ hấp thụ ( $A$ ) của dung dịch mẫu thử đã pha loãng (xem 5.4) tại các bước sóng 449 nm và 475 nm. Tỷ số  $A_{475}/A_{449}$  phải nằm trong khoảng từ 0,82 đến 0,86.

5.4 Xác định hàm lượng chất màu tổng số, theo 3.3.1.4 (Phương pháp đo quang phổ) trong TCVN 6470:2010.

#### 5.4.1 Điều kiện xác định bằng quang phổ

- Khối lượng mẫu thử: 0,08 g  $\pm$  0,01 g;
- Dung tích các bình định mức:  $V_1 = V_2 = V_3 = 100$  ml;
- Dung tích các pipet:  $v_1 = v_2 = 5$  ml;
- Độ hấp thụ riêng của chất chuẩn:  $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2550$ ;
- Bước sóng tương ứng với độ hấp thụ cực đại: khoảng 449 nm.

#### 5.4.2 Tính kết quả

Hàm lượng chất màu tổng số của mẫu thử,  $X_1$ , được tính bằng phần trăm khối lượng (%) theo công thức sau:

$$X_1 = \frac{A \times V_1 \times D}{A_{1\text{cm}}^{1\%} \times w}$$

trong đó

$A$  là độ hấp thụ của dung dịch mẫu thử được pha loãng hai lần tại bước sóng 461 nm;

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$  là độ hấp thụ riêng của  $\beta$ -caroten ( $A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2550$ );

$V_1$  là dung tích bình định mức, tính bằng mililit ( $V_1 = 100$  ml);

$D$  là hệ số pha loãng ( $D = \frac{V_2 \times V_3}{V_1 \times v_2}$ );

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

### 5.5 Xác định hàm lượng chất màu phụ

#### 5.5.1 Thuốc thử

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

##### 5.5.1.1 Hydroxytoluen đã butyl hóa (BHT).

**5.5.1.2 2-Propanol.****5.5.1.3 N-etyldiisopropyl-amin.****5.5.1.4 Amoni axetat, dung dịch 0,2 %.****5.5.1.5 Axetonitril.****5.5.1.6 Metanol.****5.5.1.7 Etanol.****5.5.1.8 Tetrahydrofuran.****5.5.1.9 Dung môi pha động**

Hòa tan 50 mg BHT (5.5.1.1) trong 20 ml 2-propanol (5.5.1.2) đựng trong bình định mức 1 000 ml. Thêm 0,2 ml N-etyldiisopropyl-amin (5.5.1.3), 25 ml dung dịch amoni axetat 0,2 % (5.5.1.4), 455 ml axetonitril (5.5.1.5) và khoảng 450 ml metanol (5.5.1.6). Để cho hỗn hợp về nhiệt độ phòng và thêm metanol đến vạch.

Sử dụng dung môi pha động trong vòng 2 ngày sau khi chuẩn bị.

**5.5.2 Thiết bị, dụng cụ**

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

**5.5.2.1 Thiết bị HPLC**, được trang bị detector UV/VIS hoặc detector mảng diot, bộ bơm mẫu tự động có làm lạnh và bộ tích phân.

**5.5.2.2 Cột sắc kí**, ví dụ: cột pha đảo C18, Suplex pkb-100 (kích thước 250 mm x 4,6 mm, cỡ hạt 5 µm) hoặc loại tương đương.

**5.5.2.3 Bình định mức**, dung tích 100 ml và 1 000 ml.

**5.5.2.4 Cân phân tích**, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

**5.5.3 Cách tiến hành****5.5.3.1 Chuẩn bị dung dịch mẫu thử**

Cân 10 mg mẫu thử, chính xác đến 0,1 mg, hòa tan trong tetrahydrofuran (5.5.1.8) (đã được ổn định bằng dung dịch BHT 0,025 %). Chuyển hỗn hợp sang bình định mức 100 ml (5.5.2.3) và thêm tetrahydrofuran đến vạch.

Pha loãng dung dịch thu được với etanol (5.5.1.7) theo tỉ lệ thể tích 1: 10.

**5.5.3.2 Điều kiện sắc kí**

– Bước sóng detector: 446 nm;

## TCVN 9959:2013

- Cột: theo 5.5.2.2;
- Pha động: dung môi 5.5.1.9;
- Rửa giải: đẳng dòng;
- Nhiệt độ cột: 30 °C;
- Tốc độ dòng: 0,6 ml/min;
- Thể tích bơm: 10 µl;
- Nhiệt độ bộ bơm lấy mẫu tự động: khoảng 15 °C;
- Thời gian chạy sắc kí: khoảng 35 min.

### 5.5.3.3 Tiến hành sắc kí

Bơm dung dịch mẫu thử vào hệ thống HPLC. Thời gian lưu của etyl este của axit all-trans-β-apo-8'-carotenoic nằm trong khoảng từ 9 min đến 11 min và tương ứng với pic lớn nhất trên sắc kí đồ. Thời gian lưu tương đối của các carotenoid so với etyl este của axit all-trans-β-apo-8'-carotenoic là: all-trans-β-apo-12'-carotenal (0,73), metyl-all-trans-β-apo-8'-carotenoat (0,97), all-trans-etyl 4'-apo-β-carotenat (1,22) và all-trans-β-caroten (2,23).

Tích phân diện tích các pic trên sắc kí đồ.

### 5.5.4 Tính kết quả

Hàm lượng các carotenoid ngoại trừ etyl este của axit β-apo-8'-carotenoic,  $X_2$ , biểu thị bằng phần trăm khối lượng so với chất màu tổng số, tính theo công thức sau:

$$X_2 = \frac{A_t - A_a}{A_t} \times 100$$

trong đó:

$A_t$  là tổng diện tích các pic trên sắc kí đồ, ngoại trừ pic của dung môi, tính theo đơn vị diện tích;

$A_a$  là diện tích pic của etyl este của axit β-apo-8'-carotenoic trên sắc kí đồ, tính theo đơn vị diện tích.

5.6 Xác định hàm lượng tro sulfat, theo 5.3.3.1.1 trong TCVN 8900-2:2012, sử dụng 2 g mẫu thử.

5.7 Xác định hàm lượng chì, theo TCVN 8900-6:2012, TCVN 8900-7:2012 hoặc TCVN 8900-8:2012.