

# QUY CHUẨN KỸ THUẬT QUỐC GIA VỀ PHỤ GIA THỰC PHẨM - CHẤT GIỮ MÀU

*National technical regulation on Food additive - Colour retention agent*

## I. QUY ĐỊNH CHUNG

### 1. Phạm vi điều chỉnh

Quy chuẩn này quy định các yêu cầu kỹ thuật và quản lý về chất lượng, vệ sinh an toàn đối với các chất giữ màu được sử dụng với mục đích làm phụ gia thực phẩm.

### 2. Đối tượng áp dụng

Quy chuẩn này áp dụng đối với:

2.1. Tổ chức, cá nhân nhập khẩu, xuất khẩu, sản xuất, buôn bán và sử dụng các chất giữ màu làm phụ gia thực phẩm (sau đây gọi tắt là tổ chức, cá nhân).

2.2. Các cơ quan quản lý nhà nước có liên quan.

### 3. Giải thích từ ngữ và chữ viết tắt:

3.1. Các chất giữ màu: là phụ gia thực phẩm được sử dụng để ổn định, duy trì hoặc làm tăng màu vốn có trong các sản phẩm thực phẩm.

3.2. JECFA monograph 1 - Vol. 4: JECFA monographs 1 - Combined compendium - JECFA monograph 1 - Vol. 4 (JECFA monographs 1 - Combined compendium of food additive specifications; Joint FAO/WHO expert committee on food additives; Volume 4 - Analytical methods, test procedures and laboratory solutions used by and referenced in the food additive specifications; FAO, 2006): Các yêu cầu kỹ thuật đối với phụ gia thực phẩm, Tập 4 Các phương pháp phân tích, quy trình thử nghiệm, dung dịch thử nghiệm được sử dụng (hoặc tham chiếu) trong yêu cầu kỹ thuật đối với phụ gia thực phẩm; JECFA biên soạn; FAO ban hành năm 2006.

3.3. Mã số C.A.S (Chemical Abstracts Service): Mã số đăng ký hóa chất của Hiệp hội Hóa chất Hoa Kỳ.

3.4. TS (test solution): Dung dịch thuốc thử.

3.5. ADI (Acceptable daily intake): Lượng ăn vào hàng ngày chấp nhận được.

3.6. INS (International numbering system): Hệ thống mã số quốc tế về phụ gia thực phẩm.

## II. YÊU CẦU KỸ THUẬT, PHƯƠNG PHÁP THỬ VÀ LẤY MẪU

1. Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử đối với các chất giữ màu được quy định tại các phụ lục ban hành kèm theo Quy chuẩn này như sau:

1.1. Phụ lục 1: Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử đối với kali nitrit

- 1.2. Phụ lục 2: Quy định kỹ thuật và phương pháp thử đối với natri nitrit
- 1.3. Phụ lục 3: Quy định kỹ thuật và phương pháp thử đối với natri nitrat
- 1.4. Phụ lục 4: Quy định kỹ thuật và phương pháp thử đối với kali nitrat

2. Các yêu cầu kỹ thuật quy định trong quy chuẩn này được thử theo JECFA monograph 1 - Vol. 4, ngoại trừ một số phép thử riêng được mô tả trong các phụ lục. Các phương pháp thử được hướng dẫn trong quy chuẩn này không bắt buộc phải áp dụng, có thể sử dụng các phương pháp thử khác tương đương.

3. Lấy mẫu theo hướng dẫn tại Thông tư 16/2009/TT-BKHCN ngày 02 tháng 6 năm 2009 của Bộ Khoa học và Công nghệ về hướng dẫn kiểm tra nhà nước về chất lượng hàng hóa lưu thông trên thị trường và các quy định khác của pháp luật có liên quan.

### **III. YÊU CẦU QUẢN LÝ**

#### **1. Công bố hợp quy**

1.1. Các chất giữ màu phải được công bố phù hợp với các quy định tại Quy chuẩn này.

1.2. Phương thức, trình tự, thủ tục công bố hợp quy được thực hiện theo Quy định về chứng nhận hợp chuẩn, chứng nhận hợp quy và công bố hợp chuẩn, công bố hợp quy ban hành kèm theo Quyết định số 24/2007/QĐ-BKHCN ngày 28 tháng 9 năm 2007 của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ và các quy định của pháp luật.

#### **2. Kiểm tra đối với chất giữ màu**

Việc kiểm tra chất lượng, vệ sinh an toàn đối với các chất giữ màu phải thực hiện theo các quy định của pháp luật.

### **IV. TRÁCH NHIỆM CỦA TỔ CHỨC, CÁ NHÂN**

1. Tổ chức, cá nhân phải công bố hợp quy phù hợp với các quy định kỹ thuật tại Quy chuẩn này, đăng ký bản công bố hợp quy tại Cục An toàn vệ sinh thực phẩm và bảo đảm chất lượng, vệ sinh an toàn theo đúng nội dung đã công bố.

2. Tổ chức, cá nhân chỉ được nhập khẩu, xuất khẩu, sản xuất, buôn bán và sử dụng các chất giữ màu sau khi hoàn tất đăng ký bản công bố hợp quy và bảo đảm chất lượng, vệ sinh an toàn, ghi nhãn phù hợp với các quy định của pháp luật.

### **V. TỔ CHỨC THỰC HIỆN**

1. Giao Cục An toàn vệ sinh thực phẩm chủ trì, phối hợp với các cơ quan chức năng có liên quan hướng dẫn triển khai và tổ chức việc thực hiện Quy chuẩn này.

2. Căn cứ vào yêu cầu quản lý, Cục An toàn vệ sinh thực phẩm có trách nhiệm kiến nghị Bộ Y tế sửa đổi, bổ sung Quy chuẩn này.

3. Trường hợp hướng dẫn của quốc tế về phương pháp thử và các quy định của pháp luật viện dẫn trong Quy chuẩn này được sửa đổi, bổ sung hoặc thay thế thì áp dụng theo văn bản mới.



## Phụ lục 1

## YÊU CẦU KỸ THUẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP THỬ ĐỐI VỚI KALI NITRIT

<b>1. Tên khác, chỉ số</b>	Potassium nitrite INS 249 ADI= 0 - 0,06 mg/kg thể trọng (Không được sử dụng trong thực phẩm cho trẻ nhỏ dưới 3 tháng tuổi).
<b>2. Định nghĩa</b>	
<i>Tên hóa học</i>	Kali nitrit
<i>Mã số C.A.S.</i>	7758-09-0
<i>Công thức hóa học</i>	$KNO_2$
<i>Khối lượng phân tử</i>	85,10
<b>3. Cảm quan</b>	Dạng hạt hoặc hình que nhỏ, trắng hoặc hơi vàng. Chảy rữa khi để ngoài không khí.
<b>4. Chức năng</b>	Chất giữ màu, chất bảo quản chống vi sinh vật.
<b>5. Yêu cầu kỹ thuật</b>	
5.1. Định tính	
<i>Độ tan</i>	Tan tốt trong nước, ít tan trong cồn.
<i>Kali</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của kali.
<i>Nitrit</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của nitrit.
5.2. Độ tinh khiết	
<i>Giảm khối lượng khi sấy</i>	Không được quá 3% (trên silicagen, 4 giờ)
<i>Chì</i>	Không được quá 2 mg/kg.
5.3. Hàm lượng $KNO_2$	Không thấp hơn 95,0% tính theo chế phẩm khô
<b>6. Phương pháp thử</b>	
6.1 Độ tinh khiết	
<i>Chì</i>	- Thử theo hướng dẫn tại <i>JECFA monograph 1 - Vol. 4</i> . - Sử dụng kỹ thuật hấp thụ nguyên tử thích hợp để xác định. Lựa chọn cỡ mẫu thử và phương pháp chuẩn bị mẫu dựa trên nguyên tắc của phương pháp mô tả trong <i>JECFA monograph 1 - Vol. 4</i> phần các phương pháp phân tích công cụ.

## 6.2. Định lượng

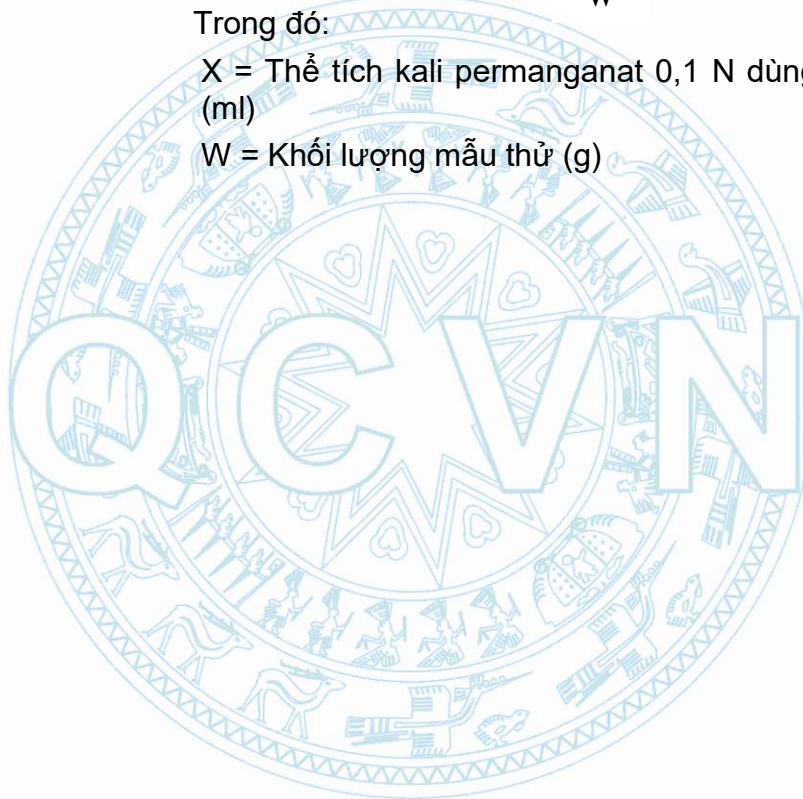
Cân khoảng 1,0 g (chính xác đến mg) mẫu thử đã được làm khô trên silicagen trong 4 giờ, hoà tan và định mức bằng nước cất đến vạch trong bình định mức dung tích 100 ml. Dùng pipet hút 10,0 ml dung dịch này và cho vào hỗn hợp gồm 50,0 ml dung dịch kali permanganat 0,1 N; 100 ml nước cất và 5 ml acid sulfuric, giữ đầu của pipet dưới bề mặt của hỗn hợp dung dịch. Đun nhẹ dung dịch đến 40 °C, để yên trong 5 phút, sau đó thêm 25 ml acid oxalic 0,1 N. Đun hỗn hợp đến khoảng 80 °C và chuẩn độ bằng dung dịch kali permanganat 0,1 N.

$$\% \text{KNO}_2 = \frac{(25 + X)}{W} \times 4,256$$

Trong đó:

X = Thể tích kali permanganat 0,1 N dùng để chuẩn độ (ml)

W = Khối lượng mẫu thử (g)



## Phụ lục 2

## YÊU CẦU KỸ THUẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP THỬ ĐỐI VỚI NATRI NITRIT

<b>1. Tên khác, chỉ số</b>	Sodium nitrite INS 250 ADI= 0 - 0,06 mg/kg thể trọng (Không nên sử dụng Natri nitrit cho trẻ em dưới 3 tháng tuổi)
<b>2. Định nghĩa</b>	
<i>Tên hóa học</i>	Natri nitrit
<i>Mã số C.A.S.</i>	7632-00-0
<i>Công thức hóa học</i>	NaNO <sub>2</sub>
<i>Khối lượng phân tử</i>	69,00
<b>3. Cảm quan</b>	Dạng bột, hạt hoặc hình que nhỏ, đục trắng hoặc hơi vàng. Dễ hút ẩm và chảy rữa khi để ngoài không khí...
<b>4. Chức năng</b>	Chất giữ màu, chất bảo quản chống vi sinh vật.
<b>5. Yêu cầu kỹ thuật</b>	
5.1. Định tính	
<i>Độ tan</i>	Tan tự do trong nước, ít tan trong cồn.
<i>Natri</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của natri.
<i>Nitrit</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của nitrit.
5.2. Độ tinh khiết	
<i>Giảm khối lượng khi sấy</i>	Không được quá 0,25% (trên silicagen, 4giờ)
<i>Chì</i>	Không được quá 2 mg/kg.
5.3. Hàm lượng NaNO <sub>2</sub>	Không thấp hơn 97,0% tính theo chế phẩm khan
<b>6. Phương pháp thử</b>	
6.1 Độ tinh khiết	
<i>Chì</i>	- Thử theo hướng dẫn tại JECFA monograph 1 - Vol. 4. - Sử dụng kỹ thuật hấp thụ nguyên tử thích hợp để xác định. Lựa chọn cỡ mẫu thử và phương pháp chuẩn bị mẫu dựa trên nguyên tắc của phương pháp mô tả trong JECFA monograph 1 - Vol. 4 phần các phương pháp phân tích công cụ.

## 6.2. Định lượng

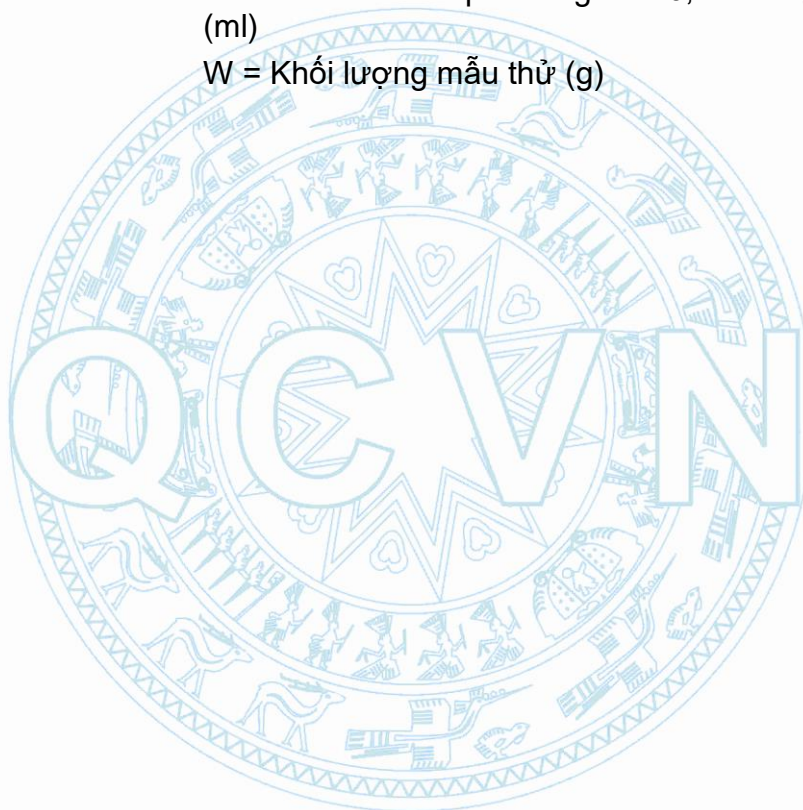
Cân khoảng 1,0 g (chính xác đến mg) mẫu thử đã khô, hoà tan và định mức bằng nước cất đến vạch trong bình định mức dung tích 100 ml. Dùng pipet hút 10,0ml dung dịch này và cho vào hỗn hợp gồm 50,0 ml dung dịch kali permanganat 0,1N; 100 ml nước cất và 5 ml acid sulfuric, giữ đầu của pipet dưới bề mặt của hỗn hợp dung dịch. Đun nhẹ dung dịch đến 40 °C, để yên trong 5 phút, sau đó thêm 25 ml acid oxalic 0,1N. Đun hỗn hợp đến khoảng 8 0°C và chuẩn độ bằng dung dịch kali permanganat 0,1N.

$$\% \text{NaNO}_2 = \frac{(25 + X)}{W} \times 3,450$$

Trong đó:

X = Thể tích kali permanganat 0,1N dùng để chuẩn độ (ml)

W = Khối lượng mẫu thử (g)



**Phụ lục 3****YÊU CẦU KỸ THUẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP THỬ ĐỐI VỚI NATRI NITRAT**

<b>1. Tên khác, chỉ số</b>	Sodium nitrate; Diêm tiêu, Chile salpetre, Cubic nitre hoặc Soda nitre INS 251 ADI = 0 - 3,7 mg/kg thể trọng (Không sử dụng nitrat cho trẻ em dưới 3 tháng tuổi)
<b>2. Định nghĩa</b>	
<i>Tên hóa học</i>	Natri nitrat
<i>Mã số C.A.S.</i>	7631-99-4
<i>Công thức hóa học</i>	NaNO <sub>3</sub>
<i>Khối lượng phân tử</i>	85,00
<b>3. Cảm quan</b>	Tinh thể trong suốt, không màu, không mùi, hoặc dạng hạt hoặc bột tinh thể trắng, chảy rữa khi để ngoài không khí ẩm.
<b>4. Chức năng</b>	Chất giữ màu, chất bảo quản chống vi sinh vật.
<b>5. Yêu cầu kỹ thuật</b>	
5.1. Định tính	
<i>Độ tan</i>	Dễ tan trong nước, tan nhẹ trong cồn.
<i>Natri</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của natri.
<i>Nitrat</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của nitrat.
5.2. Độ tinh khiết	
<i>Giảm khối lượng khi sấy khô</i>	Không được quá 2% (105 °C, 4 giờ)
<i>Nitrit</i>	Không được quá 30 mg/kg.
<i>Chì</i>	Không được quá 2 mg/kg
5.3. Hàm lượng NaNO <sub>3</sub>	Không thấp hơn 99,0% tính theo chế phẩm khô
<b>6. Phương pháp thử</b>	
6.1. Thử độ tinh khiết	
<i>Chì</i>	- Thử theo hướng dẫn tại JECFA monograph 1 - Vol. 4. - Xác định bằng kỹ thuật hấp thụ nguyên tử thích hợp cho hàm lượng quy định. Lựa chọn khối lượng mẫu thử có thể dựa trên nguyên tắc của phương pháp mô tả trong JECFA monograph 1 - Vol. 4 phần các phương pháp phân tích công cụ.



*Nitrit*Nguyên lý:

Xác định bằng phương pháp quang phổ sử dụng phản ứng giữa nitrit, suphanilamid và N-(1-naphthyl)-ethylen-diamin dihydroclorid tạo nên phức màu hồng. Đo độ hấp thụ quang của dung dịch tại bước sóng 540 nm.

Thuốc thử:

- Dung dịch sulfanilamid: Hòa tan 2 g sulfanilamid vào 1000ml dung dịch acid hydrocloric loãng (TS).
- Thuốc thử kết hợp: Hoà tan 0,2 g N-(1-naphthyl)-ethylen-diamin dihydroclorid trong nước cất và pha loãng đến 100 ml. Bảo quản tránh ánh sáng trong lọ thủy tinh màu nâu và giữ trong tủ lạnh.
- Chuẩn nitrit: Hòa tan 0,750 g natri nitrit (đã được làm khô trước đó trong 4 giờ trên silicagel) trong nước cất và pha loãng đến 1000 ml (500 µg nitrit/ml). Lấy 10 ml dung dịch gốc này pha loãng đến 100 ml với nước cất (50 µg nitrit/ml). Cuối cùng lấy 10 ml dung dịch này, pha loãng bằng nước cất đến 1000 ml, thu được chuẩn làm việc (0,5 µg nitrit/ml).

Tiến hành:Dụng cụ chuẩn

Lần lượt lấy vào các bình định mức dung tích 100 ml 0; 5 ml; 10 ml; 20 ml; 50 ml dung dịch chuẩn làm việc và pha loãng bằng nước cất đến 80 ml (ứng với 0; 2,5; 5; 10; 25 µg nitrit). Thêm vào mỗi bình 10 ml dung dịch sulfanilamid, lắc đều. Để yên trong 3 phút và thêm 1 ml thuốc thử kết hợp lần lượt vào các bình, pha loãng đến vạch bằng nước cất, lắc đều và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ quang của các dung dịch chuẩn so với nước cất ở bước sóng 540 nm, sử dụng cuvet 10 mm. Dụng cụ chuẩn biểu thị sự phụ thuộc của độ hấp thụ quang so với lượng nitrit trong dung dịch (đường chuẩn phải là đường thẳng).

Tiến hành thử

Cân khoảng 1 g mẫu (chính xác đến mg). Hòa tan và định mức đến 100 ml bằng nước cất. Dùng pipet hút 20ml dung dịch, cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng nước cất đến khoảng 80 ml. Thêm 10 ml dung dịch sulfanilamid, lắc đều. Để yên trong 3 phút và thêm 1 ml thuốc thử kết hợp, pha loãng đến vạch bằng nước cất, lắc đều và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn so với nước cất ở bước sóng 540 nm, sử dụng cuvet 10 mm. Dựa vào đường chuẩn và độ hấp thụ quang của dịch thử đo được, tính lượng nitrit có trong dịch thử.

Tính kết quả

$$\text{Hàm lượng nitrit} = \frac{A \times 5}{W} (\text{mg/kg})$$

Trong đó:

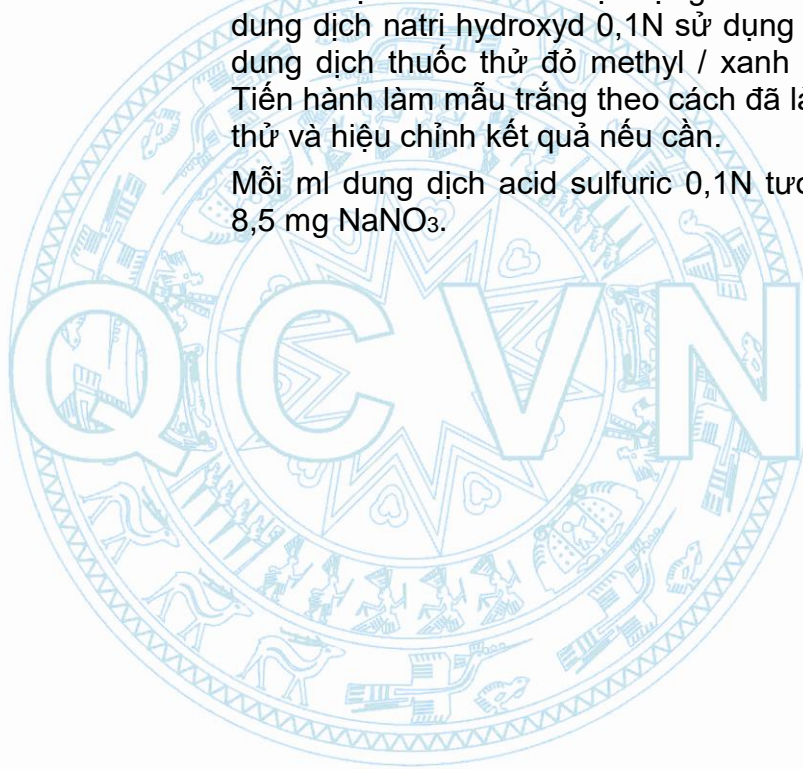
A = Lượng nitrit đọc được từ đường chuẩn ( $\mu\text{g}$ )

W = Khối lượng mẫu thử (g)

## 6.2. Định lượng

Cân khoảng 0,4 g mẫu thử đã được làm khô (chính xác đến 0,1 mg), hoà tan vào 300 ml nước cất trong một bình cầu 500 ml. Thêm 3 g bột hợp kim Devarda và 15 ml dung dịch natri hydroxyd (nồng độ 2/5). Lắp bình cầu với sinh hàn và bộ phận chống trào. Để yên khoảng 2 giờ. Cho 50 ml dung dịch acid sulfuric 0,1N vào bình hứng dịch cất, tiến hành cất và thu lấy khoảng 250 ml dịch cất. Chuẩn độ lượng acid sulfuric dư bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1N sử dụng chỉ thị là 3 giọt dung dịch thuốc thử đỏ methyl / xanh methylen (TS). Tiến hành làm mẫu trắng theo cách đã làm đối với mẫu thử và hiệu chỉnh kết quả nếu cần.

Mỗi ml dung dịch acid sulfuric 0,1N tương đương với 8,5 mg  $\text{NaNO}_3$ .



## Phụ lục 4

## YÊU CẦU KỸ THUẬT VÀ PHƯƠNG PHÁP THỬ ĐỐI VỚI KALI NITRAT

<b>1. Tên khác, chỉ số</b>	INS 252 ADI = 0 - 3,7 mg/kg thể trọng (Không sử dụng nitrat cho trẻ em dưới 3 tháng tuổi).
<b>2. Định nghĩa</b>	
<i>Tên hóa học</i>	Kali nitrat
<i>Mã số C.A.S.</i>	7757-79-1
<i>Công thức hóa học</i>	$KNO_3$
<i>Khối lượng phân tử</i>	101,11
<b>3. Cảm quan</b>	Tinh thể lắng trụ trong, không màu, không mùi hoặc dạng bột hay hạt tinh thể trắng.
<b>4. Chức năng</b>	Chất giữ màu, chất bảo quản chống vi sinh vật.
<b>5. Yêu cầu kỹ thuật</b>	
5.1. Định tính	
<i>Độ tan</i>	Tan trong nước, tan nhẹ trong cồn.
<i>Kali</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của kali.
<i>Nitrat</i>	Phải có phản ứng đặc trưng của nitrat.
5.2. Độ tinh khiết	
<i>Giảm khối lượng khi sấy</i>	Không được quá 1% (105 °C, 4 giờ)
<i>Nitrit</i>	Không được quá 20 mg/kg
<i>Chì</i>	Không được quá 2 mg/kg.
5.3. Hàm lượng $KNO_3$	Không thấp hơn 99,0% tính theo chế phẩm khô
<b>6. Phương pháp thử</b>	
6.1. Độ tinh khiết	
<i>Nitrit</i>	<u>Nguyên lý:</u> Xác định bằng phương pháp đo quang sử dụng phản ứng giữa nitrit, suphanilamid và N-(1-naphthyl)-ethylen-diamin dihydroclorid trong nước tạo phức màu hồng, đo độ hấp thụ quang của dung dịch tại bước sóng 540 nm.

Thuốc thử:

- Dung dịch sulfanilamid: Hòa tan 2 g sulfanilamid vào dung dịch acid hydrochloric loãng (TS) và định mức đến 1000 ml.
- Thuốc thử kết hợp: Hòa tan 0,2 g N-(1-naphthyl)-ethylen-diamin dihydroclorid trong nước cất và định mức đến 100 ml. Bảo quản tránh ánh sáng trong lọ thủy tinh màu và giữ trong tủ lạnh.
- Chuẩn nitrit: Hòa tan 0,750 g Natri nitrit (đã được làm khan trước đó trong 4 giờ trên silicagen) trong nước cất và pha loãng đến 1000 ml (500 µg nitrit/ml). Lấy 10 ml dung dịch gốc pha loãng ra 100 ml với nước cất (50 µg nitrit/ml). Cuối cùng lấy 10 ml dung dịch này bằng nước cất đến 1000 ml thu được chuẩn làm việc (0,5 µg nitrit/ml).

Tiến hành:Dựng đường chuẩn

Lần lượt lấy vào các bình định mức dung tích 100 ml 0; 5 ml; 10 ml; 20 ml; 50 ml dung dịch chuẩn làm việc và pha loãng với 80 ml nước cất. Thêm vào mỗi bình 10 ml dung dịch sulfanilamid, lắc đều. Để yên trong 3 phút và thêm 1 ml thuốc thử kết hợp lần lượt vào các bình, pha loãng đến vạch thể tích bằng nước cất, lắc đều và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ quang của các dung dịch chuẩn so với nước cất ở bước sóng 540 nm, sử dụng cuvet có chiều dày 10 mm. Xây dựng đường chuẩn biểu thị sự phụ thuộc của độ hấp thụ quang so với lượng nitrit trong dung dịch (đường chuẩn phải là đường tuyến tính).

Tiến hành thử

Cân khoảng 1 g mẫu (chính xác đến mg). Hòa tan và định mức đến 100 ml bằng nước cất. Dùng pipet hút 20 ml dung dịch, cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng với khoảng 80 ml nước cất. Thêm vào 10 ml dung dịch sulfanilamid, lắc đều. Để yên trong 3 phút và thêm 1ml thuốc thử kết hợp, pha loãng đến vạch thể tích bằng nước cất, lắc đều và để yên trong 15 phút. Đo độ hấp thụ quang của dung dịch chuẩn so với nước cất ở bước sóng 540 nm, sử dụng cuvet có chiều dày 10 mm. Dựa vào đường chuẩn và độ hấp thụ quang của dịch thử đo được tính lượng nitrit có trong dịch thử.

Tính kết quả

$$\text{Hàm lượng nitrit} = \frac{A \times 5}{W} (\text{mg/kg})$$

Trong đó:

A = Lượng nitrit trong dịch thử (µg)

W = Khối lượng mẫu thử (g)

Chi

Thử theo hướng dẫn tại *JECFA monograph 1 - Vol. 4*. Sử dụng kỹ thuật hấp thụ nguyên tử thích hợp để xác định. Lựa chọn khối lượng mẫu thử có thể dựa trên nguyên tắc của phương pháp mô tả trong *JECFA monograph 1 - Vol. 4* phần các phương pháp phân tích công cụ.

## 6.2. Định lượng

Cân khoảng 0,4 g (chính xác đến mg) mẫu thử đã được sấy khô tại 105 °C trong 4 giờ, hoà tan vào 300 ml nước cất trong một bình cầu dung tích 500 ml. Thêm 3 g bột hợp kim Devada và 15 ml dung dịch natri hydroxyd (nồng độ 2/5). Lắp bình cầu với sinh hàn và bộ phận chống phun trào. Để yên khoảng 2 giờ. Cho 50 ml dung dịch acid sulfuric 0,1N vào bình hứng dịch cất, tiến hành cất và thu lấy khoảng 250 ml dịch cất. Chuẩn độ lượng acid sulfuric dư bằng dung dịch natri hydroxyd 0,1N sử dụng chỉ thị là 3 giọt dung dịch thuốc thử đỏ methyl/ xanh methylen (TS). Tiến hành làm mẫu trắng theo cách đã làm đối với mẫu thử và hiệu chuẩn kết quả, nếu cần.

Mỗi ml dung dịch acid sulfuric 0,1N tương đương với 10,11 mg  $\text{KNO}_3$ .

