

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 12319-1:2018

Xuất bản lần 1

**BIA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ TỔNG SỐ -
PHẦN 1: PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL**

Beer -Determination of total nitrogen content - Part 1: Kjeldahl method

HÀ NỘI - 2018

Lời nói đầu

TCVN 12319-1:2018 được xây dựng trên cơ sở tham khảo tiêu chuẩn của Hiệp hội Đồ uống châu Âu, EBC Method 9.9.1 (2000) *Total nitrogen in beer: Kjeldahl method*;

TCVN 12319-1:2018 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F9 *Đồ uống* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố;

Bộ tiêu chuẩn TCVN 12319-1:2018 *Bia – Xác định hàm lượng nitơ tổng số* gồm các phần:

- TCVN 12319-1:2018, *Phần 1: Phương pháp Kjeldahl*;
- TCVN 12319-2:2018, *Phần 2: Phương pháp đốt cháy Dumas*.

Bia – Xác định hàm lượng nitơ tổng số –

Phần 1: Phương pháp Kjeldahl

Beer – Determination of total nitrogen content –

Part 1: Kjeldahl method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp Kjeldahl để xác định hàm lượng nitơ tổng số của các loại bia.

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 4851:1989 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

3 Nguyên tắc

Phân hủy các hợp chất nitơ có trong mẫu thử bằng axit sulfuric đặc nóng, có mặt chất xúc tác, để tạo thành amoni sulfat. Sản phẩm phân hủy được kiểm hóa bằng dung dịch natri hydroxit và amoniac giải phóng ra sẽ được chưng cất vào lượng dư dung dịch axit boric. Chuẩn độ amoniac bằng dung dịch axit chuẩn.

4 Thuốc thử và vật liệu thử

Sử dụng thuốc thử tinh khiết phân tích và nước đạt loại 3 theo TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987), trừ khi có quy định khác.

4.1 Axit sulfuric, 98 % (khối lượng/thể tích), không chứa nitơ.

4.2 Dung dịch natri hydroxit

Hòa tan 450 g natri hydroxit dạng viên hoặc dạng vảy, trong 1 L nước.

Dung dịch phải có tỉ trọng tương đối bằng hoặc lớn hơn 1,35.

4.3 Hỗn hợp chất xúc tác, gồm kali sulfat dạng bột, titan dioxit và đồng sulfat ngậm năm phân tử nước theo tỉ lệ tương ứng 1000 : 30 : 30 (phần khối lượng).

Có thể sử dụng viên xúc tác bán sẵn có thành phần tương tự.

4.4 Chất chống tạo bọt, cacborundum dạng bột thô, kẽm dạng viên hoặc bĩ thủy tinh.

4.5 Dung dịch axit boric, 20 g/L.

4.6 Dung dịch axit chuẩn độ, axit clohydric 0,1 M hoặc axit sulfuric 0,05 M.

4.7 Chất chỉ thị bromocresol xanh

Trộn dung dịch bromocresol xanh (3'3",5'5"-tetrabromo-m-cresolsulfonephthalein) nồng độ 1 g/L trong etanol 95 % (thể tích) với dung dịch metyl đỏ (axit 2-[4 (dimethylamino)phenylazo] benzoic) nồng độ 1 g/L trong etanol 95 % (thể tích), với tỉ lệ thể tích 10 : 4.

Chất chỉ thị này có màu hồng trong môi trường axit, màu xám tại điểm kết thúc chuẩn độ và màu xanh lam trong môi trường kiềm.

4.8 Sacarose, tinh khiết.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Bộ phân hủy mẫu Kjeldahl.

5.2 Bình Kjeldahl, dung tích 500 ml.

5.3 Bộ chưng cất nitơ.

5.4 Bình nón, dung tích 250 ml (bình hứng) và 1 000 ml.

5.5 Ống đong, dung tích 25 ml và 250 ml.

5.6 Pipet, chia vạch đến 1 ml.

5.7 Buret, loại 25 ml hoặc 50 ml.

5.8 Thiết bị làm bay hơi nước.

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

6 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 5519 (ST SEV 5808)¹⁾.

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị mẫu thử

Ôn định mẫu thử ở nhiệt độ khoảng 20 °C. Khử khí cacbonic bằng cách chuyển mẫu thử vào bình nón dung tích 1 000 ml (5.4), ban đầu lắc nhẹ sau đó lắc mạnh hơn cho đến khi không còn bọt khí thoát ra.

Tiến hành khử khí cẩn thận, không để thất thoát bọt bia vì bọt bia có thể giàu nitơ.

7.2 Phân hủy mẫu

Dùng pipet lấy 20 ml phần mẫu thử đã khử khí (7.1), cho vào bình Kjeldahl 500 ml (5.2). Thêm từ 2 ml đến 3 ml axit sulfuric 98 % (4.1). Nếu cần, thêm chất chống tạo bọt (4.4) để ngăn bọt trào ra. Cho hỗn hợp bay hơi nước đến gần khô với tốc độ tối thiểu.

Thêm 20 ml axit sulfuric 98 % (4.1) và 10 g hỗn hợp chất xúc tác (4.3). Tiến hành phân hủy mẫu ở nhiệt độ thấp cho đến khi ngừng tạo bọt. Đun sôi hỗn hợp đến khi mất màu nâu, đun tiếp trong 30 min. Không để nguồn nhiệt tiếp xúc trực tiếp với bình ở phía trên mức chất lỏng và phải quan sát thấy hơi nước hồi lưu tại vùng thấp của cổ bình Kjeldahl. Để nguội dịch phân hủy.

7.3 Chung cất

Cẩn thận pha loãng dịch phân hủy (7.2) với 250 ml nước, thêm chất chống tạo bọt (4.4) và thêm từ từ khoảng 70 ml dung dịch natri hydroxit (4.2) để tạo thành hai lớp rõ rệt. Lắp bình Kjeldahl với ống bảo vệ và nối với ống sinh hàn của bộ chung cất (5.3), chú ý không làm xáo trộn các lớp chất lỏng. Đầu ra của ống sinh hàn phải nhúng ngập vào dung dịch axit boric (4.5) đựng trong bình hứng 250 ml (5.4).

Xoay mạnh bình Kjeldahl để trộn nhanh lượng chứa trong bình và gia nhiệt đủ. Bật sẵn thiết bị gia nhiệt trước khi nối bình để giảm thiểu nguy hiểm do chất lỏng chảy ngược trở lại qua ống sinh hàn. Ngay sau khi trộn, nên tháo bình chứa axit boric để làm khô đầu ra của bình sinh hàn và để cân bằng áp suất trong bình chung cất (bình Kjeldahl).

TCVN 12319-1:2018

Chưng cất amoniac vào lượng dư axit boric nồng độ 20 g/lit (khoảng 25 ml), có chứa 0,5 ml chất chỉ thị (4.7). Thu lấy khoảng 180 ml dịch chưng cất và chuẩn độ amoniac bằng dung dịch axit chuẩn độ (4.6). Điểm kết thúc chuẩn độ đạt được khi dung dịch chuyển sang màu xám.

7.4 Mẫu trắng

Thực hiện mẫu trắng thuốc thử, dùng 1,000 g sacarose (4.8) thay cho phần mẫu thử.

8 Tính và biểu thị kết quả

Hàm lượng nitơ tổng số của mẫu thử, X , biểu thị bằng miligam trên lít (mg/L), được tính theo Công thức:

$$X = \frac{T \times 1,4 \times 10^3}{V}$$

Trong đó:

T là thể tích dung dịch axit chuẩn độ (axit clohydric 0,1 M hoặc axit sulfuric 0,05 M) cần để trung hòa amoniac sau khi trừ giá trị tương ứng của mẫu trắng thuốc thử (7.4), tính bằng mililit (ml);

1,4 là số miligam nitơ tương ứng với 1 ml dung dịch axit chuẩn độ (axit clohydric 0,1 M hoặc axit sulfuric 0,05 M);

V là thể tích mẫu thử đã lấy, tính bằng mililit (ml);

10^3 là hệ số chuyển đổi từ mililit sang lít.

Biểu thị kết quả đến số nguyên gần nhất.

9 Độ chụm

Các giá trị độ chụm dưới đây được xác định từ dữ liệu thử nghiệm liên phòng ở năm mức trong dải hàm lượng nitơ tổng số từ 40 mg/L đến 1 000 mg/L. Các giá trị độ chụm này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và nền mẫu khác với dải nồng độ và nền mẫu đã nêu.

9.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ về hàm lượng nitơ tổng số, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong cùng một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn giá trị giới hạn lặp lại $r = 7 + 0,012 m$ (mg/L).

Trong đó m là giá trị trung bình của hàm lượng nitơ tổng số.

9.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ về hàm lượng nitơ tổng số, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn giá trị giới hạn tái lập $R = 10 + 0,05 m$ (mg/L).

Trong đó m là giá trị trung bình của hàm lượng nitơ tổng số.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu thỏa mãn yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 5519 (ST SEV 5808), *Bia – Quy tắc nghiệm thu và phương pháp lấy mẫu*
 - [2] TCVN 10791:2015, *Malt – Xác định hàm lượng nitơ tổng số và tính hàm lượng protein thô – Phương pháp Kjeldahl*
 - [3] TCVN 12319-2:2018, *Bia – Xác định hàm lượng nitơ tổng số – Phần 2: Phương pháp đốt cháy Dumas*
 - [4] TCVN 12322:2018, *Bia – Xác định hàm lượng flavanoid – Phương pháp quang phổ*
 - [5] EBC Method 3.3.1, *Total Nitrogen of Barley: Kjeldahl Method*
-