

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 10487 : 2014**

Xuất bản lần 1

**THỨC ĂN CHĂN NUÔI – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AXIT  
ARSANNILIC BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ**

*Animal feeding stuffs –*

*Determination of arsanilic acid content by spectrophotometric method*

**HÀ NỘI - 2014**

## **Lời nói đầu**

TCVN 10487:2014 được xây dựng dựa theo AOAC 954.17 *Arsanilic Acid in Feeds. Spectrophotometric Method*;

TCVN 10487:2014 do Viện Chăn nuôi 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.

# **Thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng axit arsanilic bằng phương pháp quang phổ**

*Animal feeding stuffs - Determination of arsanilic acid content by spectrophotometric method*

## **1 Phạm vi áp dụng**

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp đo quang phổ để xác định hàm lượng axit arsanilic trong thức ăn chăn nuôi khi không có mặt sulfonamid.

## **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 6952 (ISO 6498) *Thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử*

## **3 Nguyên tắc**

Xử lý mẫu lần lượt bằng dung dịch natri hydroxit loãng nóng và dung dịch axit clohydric, sau đó lọc để thu được dung dịch axit arsanilic. Axit arsanilic phản ứng lần lượt với natri nitrit, amoni sulfamat và N-naphthylethylenediamine tạo thành hợp chất màu, đo độ hấp thụ của hợp chất này ở bước sóng 538 nm.

## **4 Thuốc thử và vật liệu thử**

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

**4.1 Dung dịch natri hydroxit (NaOH), 0,5 M.**

**4.2 Dung dịch axit clohydric (HCl), (1 + 1) (thể tích).**

Pha loãng 1 thể tích axit clohydric đặc với 1 thể tích nước.

## **TCVN 10487:2014**

**4.3 Dung dịch natri nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ), 0,1 % (khối lượng/thể tích).**

**4.4 Dung dịch chuẩn axit arsanilic, 2  $\mu\text{g/ml}$**

Cho 0,100 g axit arsanilic tinh khiết vào bình định mức 100 ml (5.2), thêm khoảng 20 ml nước và 2 ml dung dịch natri hydroxit 0,5 M (4.1) và hòa tan. Thêm nước đến vạch rồi trộn kỹ. Chuyển 10 ml hỗn hợp này sang bình định mức 100 ml khác, thêm nước đến vạch rồi trộn kỹ. Chuyển 5 ml dung dịch thu được vào bình định mức 250 ml (5.2), thêm nước đến vạch rồi trộn đều.

**4.5 Thuốc thử liên kết**

Dung dịch *N*-naphthylethylenediamine-2HCl 0,1 %, dung dịch này được chuẩn bị để sử dụng trong một tuần và được bảo quản trong chai thủy tinh tối màu để trong tủ lạnh.

**4.6 Dung dịch amoni sulfamat, 0,5 % (khối lượng/thể tích).**

**4.7 Bột trợ lọc, Cel hoặc loại tương đương.**

**4.8 Bông thủy tinh.**

## **5 Thiết bị, dụng cụ**

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

**5.1 Máy đo quang phổ hoặc máy đo quang có bộ lọc.**

**5.2 Bình định mức, dung tích 15 ml, 100 ml, 200 ml và 250 ml.**

**5.3 Bể ổn nhiệt.**

**5.4 Pipet, có thể phân phối các thể tích thích hợp.**

**5.5 Giấy lọc, Whatman No. 42 hoặc loại tương đương.**

**5.6 Cốc có mồi, dung tích 250 ml.**

**5.7 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 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 4325 (ISO 6497) <sup>[1]</sup>.

## 7 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6952 (ISO 6498).

## 8 Cách tiến hành

### 8.1 Dụng đường chuẩn

Dùng pipet (5.4) lấy các lượng 0 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml và 8 ml dung dịch chuẩn axit arsanilic (4.4) cho vào các bình định mức 15 ml (5.2), thêm vào mỗi bình 1 ml axit clohydric (4.2) và 2 ml dung dịch natri nitrit (4.3), trộn rồi để yên 5 min. Thêm 2 ml dung dịch amoni sulfamat (4.6) và để yên 2 min. Sau đó, thêm vào 1 ml thuốc thử liên kết (4.5), trộn và để yên 10 min rồi pha loãng dung dịch đến 15 ml. Trộn kỹ, nếu có bọt khí thì lọc dung dịch qua bông thủy tinh (4.8) và xác định độ hấp thụ so với nước ở bước sóng 538 nm trong máy đo quang phổ hoặc ở bước sóng 540 nm bằng máy đo quang có bộ lọc (5.1).

Lấy độ hấp thụ của chất chuẩn trừ đi độ hấp thụ trắng (không thêm 1 ml thuốc thử liên kết) và dựng đồ thị biểu thị giá trị chênh lệch này dựa vào 4 µg, 6 µg, 10 µg và 16 µg axit arsanilic có trong phần dịch lỏng.

### 8.2 Phép xác định

Chuyển 4,0 g phần mẫu thử vừa mới nghiền (xem Điều 7) vào bình định mức 200 ml (5.2), thêm khoảng 80 ml nước và 4 ml dung dịch natri hydroxit (4.1). Đặt bình định mức trên bể ổn nhiệt (5.3) ở  $85\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  khoảng 5 min, thỉnh thoảng xoay bình. Cẩn thận thêm 20 ml axit clohydric (4.2), trộn và để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm nước đến vạch, trộn rồi rót sang cốc có mỏ (5.6), thêm một ít bột trợ lọc (4.7) và lọc qua giấy lọc (5.5), loại bỏ 5 ml dịch lọc đầu tiên.

Dùng pipet lấy dịch lọc trong suốt cho vào hai bình định mức dung tích 15 ml (5.2), mỗi bình 5 ml. Thêm vào mỗi bình 2 ml dung dịch natri nitrit (4.3), trộn rồi để yên 5 min. Thêm 2 ml dung dịch amoni sulfamat (4.6) và để yên 2 min. Sau đó, thêm 1 ml thuốc thử liên kết (4.5) vào một trong hai bình, trộn và để yên 10 min trước khi pha loãng cả hai dung dịch đến 15 ml. Trộn kỹ, nếu có bọt khí thì lọc dung dịch qua bông thủy tinh (4.8) và xác định độ hấp thụ so với nước ở bước sóng 538 nm trong máy đo quang phổ hoặc ở bước sóng 540 nm bằng máy đo quang có bộ lọc (5.1). Lấy độ hấp thụ của phần mẫu thử trừ đi độ hấp thụ trắng.

Từ đường chuẩn (xem 8.1), xác định số microgam axit arsanilic có trong phần dịch lọc (tương đương với 0,100 g mẫu thử).

## 9 Tính kết quả

Hàm lượng axit arsanilic có trong mẫu thử,  $X$ , biểu thị bằng miligam trên kilogam (mg/kg), được tính theo công thức:

$$X = \frac{m_1 \times V_0}{V_1 \times m}$$

Trong đó:

- $m_1$  là khối lượng axit arsanilic có trong phần dịch lọc, xác định được theo 8.2, tính bằng microgam ( $\mu\text{g}$ );
- $V_0$  là dung tích bình định mức đựng dung dịch mẫu thử (xem 8.2), tính bằng mililit ( $V_0 = 200 \text{ ml}$ );
- $V_1$  là thể tích dịch lọc được lấy để đo độ hấp thụ (xem 8.2), tính bằng mililit ( $V_1 = 5 \text{ ml}$ );
- $m$  là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

## 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 dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) Tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- e) Kết quả thử nghiệm thu được.

**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] TCVN 4325 (ISO 6497) *Thức ăn chăn nuôi – Lấy mẫu*
  - [2] AOAC 969.53 *Aklomide in Feeds. Spectrophotometric Method*
-