TCVN TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10491 : 2014

Xuất bản lần 1

THỨC ĂN CHĂN NUÔI – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NICARBAZIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ

Animal feeding stuffs –

Determination of nicarbazin content by spectrophotometric method

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

TCVN 10491:2014 được xây dựng dựa theo AOAC 956.11 Nicarbazin in Feeds. Spectrophotometric Method;

TCVN 10491:2014 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 nicarbazin bằng phương pháp quang phổ

Animal feeding stuffs - Determination of nicarbazin content by spectrophotometric method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp đo quang phổ để xác định hàm lượng nicarbazin trong thức ăn chăn nuôi.

Nếu mẫu có chứa furazolidone, nitrofurazone hoặc nihydrazone thì kết quả xác định hàm lượng nicarbazin có thể cao hơn hàm lượng thực. Để khẳng định sự có mặt của nicarbazin, thực hiện theo 8.5.

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

Chiết nicarbazin khỏi mẫu bằng dimethylformamide. Hấp thụ nicarbazin bằng oxit nhôm, rửa giải bằng alcol, hiện màu bằng dung dịch natri hydroxit trong etanol và đo quang ở bước sóng 430 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 Dimethylformamide (DMF).

4.2 Nhôm oxit (Al_2O_3), loại dùng cho sắc ký, phải đạt yêu cầu của phép thử sau: Lắc mạnh 10 g nhôm oxit với 100 ml nước đựng trong bình dung tích 250 ml có nắp đậy thủy tinh trong khoảng trên 2 min. Để lắng, gạn chất lỏng và xác định pH bằng cách đo điện thế. pH phải trong khoảng từ 9,5 đến 10,5. Độ thu hồi của nicarbazin có thể thay đổi tùy thuộc vào các loại nhôm oxit khác nhau. Kiểm tra độ thu hồi cột bằng phân tích dịch chiết thức ăn chăn nuôi có bổ sung chất chuẩn.

4.3 Etanol, 95 % (thể tích).

4.4 Dung dịch natri hydroxit (NaOH), 50 % (khối lượng/thể tích)

Hòa tan 1 phần khối lượng natri hydroxit (loại thuốc thử chứa < 5 % Na_2CO_3) với một phần nước đựng trong bình thủy tinh có nắp đậy, khuấy cho đến khi dung dịch hòa tan hoàn toàn. Đậy nắp bình, để yên cho Na_2CO_3 lắng hoàn toàn và để thu được chất lỏng trong suốt (khoảng 10 ngày).

4.5 Dung dịch natri hydroxit trong etanol

Pha loãng 2 ml dung dịch natri hydroxit trong suốt (4.4) đến 100 ml bằng etanol (4.3). Ly tâm trong ống nghiệm đã đậy nắp. Chuẩn bị trong ngày sử dụng.

4.6 Dung dịch chuẩn nicarbazin

4.6.1 Dung dịch chuẩn gốc

Cân 25,0 mg chất chuẩn nicarbazin cho vào bình định mức 500 ml, thêm vào khoảng 150 ml DMF (4.1), làm ấm để hòa tan. Để nguội, thêm DMF đến vạch và trộn đều. Bảo quản tránh ánh sáng.

4.6.2 Dung dịch chuẩn làm việc, 12,5 µg/ml

Chuyển 25,0 ml dung dịch chuẩn gốc (4.6.1) sang bình định mức 100 ml và pha loãng đến vạch bằng DMF (4.1). Trộn kỹ.

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

5.2 Pipet, có thể phân phối các thể tích thích hợp.

5.3 Bình định mức, dung tích 25 ml, 50 ml, 100 ml và 500 ml.

5.4 Bình nón, dung tích 250 ml.

5.5 Cột sắc kí thủy tinh, dài 50 cm, đường kính trong 22 mm, có đầu dưới hẹp.

5.6 Ống nghiệm, kích thước 25 mm x 200 mm.

5.7 Ống ly tâm.

5.8 Máy ly tâm.

5.9 Bếp điện.

5.10 Tủ hút.

5.11 Máy đo quang phổ hoặc **máy đo màu**, có thể đo ở bước sóng 430 nm.

5.12 Máy đo quang phổ, đo được ở bước sóng trong dải từ 340 nm đến 350 nm.

5.13 Bông thủy tinh.

5.14 Đũa thủy tinh.

5.15 Cuvet thạch anh, chiều dài đường quang 1 cm.

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)[1].

7 Chuẩn bị mẫu thử

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

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị cột sắc kí

Dùng bông thủy tinh (5.13) nút vào đầu hẹp của cột sắc kí thủy tinh (5.5) và thêm vào cột 30 g nhôm oxit (4.2), chia làm ba lần, mỗi lần 10 g. Mỗi lần bổ sung, dùng đũa thủy tinh (5.14) nhồi cột trong khi hút nhẹ. Rửa cột bằng 25 ml DMF (4.1), cho chảy đến khi còn khoảng từ 1 cm đến 2 cm trên đầu cột trước khi cho mẫu vào cột. Chuẩn bị cột đối với mỗi phần mẫu thử và chất chuẩn.

Không để cột chảy đến khô, luôn giữ chất lỏng ở phía trên cột.

8.2 Dựng đường chuẩn

Dùng pipet (5.2) lấy 10 ml, 15 ml và 20 ml các phần dung dịch chuẩn làm việc (4.6.2) đã chạy qua cột sắc kí (xem 8.4) cho vào các bình định mức 25 ml (5.3) riêng rẽ, thêm 5 ml dung dịch natri hydroxit trong etanol (4.5), thêm etanol đến vạch. Trộn kỹ. Đo độ hấp thụ trong vòng 5 min ở bước sóng 430 nm so với etanol.

Dựng đường chuẩn dựa vào độ hấp thụ đo được và số miligam nicarbazin.

8.3 Chuẩn bị phần mẫu thử

Cân 10,0 g phần mẫu thử đã chuẩn bị (xem Điều 7) cho vào bình nón dung tích 250 ml (5.4) và thêm 100,0 ml DMF (4.1). Đun vừa đến sôi trên bếp điện (5.9) để trong tủ hút (5.10) thỉnh thoảng khuấy. Làm nguội đến nhiệt độ phòng bằng cách ngâm vào nước. Gạn phần dung dịch phía trên sang các ống ly tâm (5.7) và cho ly tâm trong 3 min.

8.4 Phép xác định

Dùng pipet (5.2) lấy 25,0 ml dịch chiết trong suốt cho sang cột sắc kí, để cho dịch chiết chảy qua cột trong khi hút nhẹ. Rửa cột ba lần, mỗi lần dùng 10 ml DMF (4.1) và loại bỏ nước rửa. Rửa giải chín lần bằng etanol (4.3), mỗi lần dùng 5 ml, loại bỏ 15 ml dịch rửa giải đầu tiên và thu lấy 25 ml dịch rửa giải tiếp theo vào ống nghiệm (5.6). Chuyển định lượng dịch rửa giải sang bình định mức 50 ml (5.3) và thêm etanol đến vạch. Trộn kỹ.

Dùng pipet (5.2) lấy 25,0 ml dung dịch chuẩn làm việc (4.6.2) cho vào một cột khác và thực hiện như đối với phần mẫu thử.

Dùng pipet (5.2) lấy hai phần dung dịch thử mỗi phần 15,0 ml cho vào hai bình định mức 25 ml (5.3) riêng rẽ. Thêm vào một bình 5,0 ml dung dịch natri hydroxit trong etanol (4.5) và thêm etanol (4.3) vào cả hai bình đến 25 ml. Đọc độ hấp thụ của dung dịch màu vàng tạo thành trong bình thứ nhất trong vòng 5 min trong máy đo quang phổ hoặc máy đo màu (5.11) ở bước sóng 430 nm, dùng dung dịch thứ hai làm mẫu trắng.

Tính khối lượng nicarbazin từ đường chuẩn.

8.5 Phép thử nhận biết

Cho etanol (4.3) vào cuvet thạch anh (5.15) và cho dung dịch mẫu trong suốt vào cuvet thích hợp. Dùng máy đo quang phổ (5.12) để xác định độ hấp thụ ở các bước sóng cách nhau 2 nm trong dải từ 340 nm đến 349 nm, với độ rộng khe nhỏ nhất hoặc quét phổ từ bước sóng 340 nm đến 349 nm. Nếu xuất hiện hấp thụ cực đại ở bước sóng 344 nm ± 4 nm thì mẫu thử có chứa nicarbazin.

9 Tính kết quả

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

$$X = \frac{w_1 \times V_1 \times V_3 \times 10^3}{w \times V_2 \times V_4}$$

Trong đó:

w_1 là khối lượng nicarbazin có trong dung dịch đọc độ hấp thụ, xác định được từ đường chuẩn, tính bằng miligam (mg);

w là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g);

V_1 là thể tích DMF dùng để hòa tan phần mẫu thử (xem 8.3), tính bằng mililit (V_1 = 100 ml);

V_2 là thể tích dịch chiết dùng trong phép xác định (xem 8.4), tính bằng mililit (V_2 = 25 ml);

V_3 là thể tích dịch rửa giải sau khi pha loãng (xem 8.4), tính bằng mililit (V_3 = 50 ml);

V_4 là thể tích dịch rửa giải pha loãng được lấy để xác định độ hấp thụ (xem 8.4), tính bằng mililit (V_4 = 15 ml);

10^3 là hệ số chuyển đổi từ gam sang miligam.

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 tuỳ 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 961.24 *Amprolium in Feeds. Spectrophotometer method*