

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 14432:2025

ISO 21422:2018

Xuất bản lần 1

**SỮA, SẢN PHẨM SỮA, THỨC ĂN CÔNG THỨC
DÀNH CHO TRẺ SƠ SINH VÀ SẢN PHẨM DINH DƯỠNG
DÀNH CHO NGƯỜI LỚN – XÁC ĐỊNH CHLORIDE –
PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ ĐIỆN THẾ**

*Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals –
Determination of chloride – Potentiometric titration method*

HÀ NỘI – 2025

Lời nói đầu

TCVN 14432:2025 hoàn toàn tương đương với ISO 21422:2018 ^{*)};

TCVN 14432:2025 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F6 *Dinh dưỡng và thức ăn kiêng* biên soạn, Viện Tiêu chuẩn Chất lượng Việt Nam đề nghị, Ủy ban Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng quốc gia thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

^{*)} Phương pháp nêu trong ISO 21422:2018 tương đương với AOAC 2016.03 *Chloride in milk, milk product, whey powder, infant formula and adult nutritionals potentiometric titration*.

Sữa, sản phẩm sữa, thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và sản phẩm dinh dưỡng dành cho người lớn – Xác định chloride – Phương pháp chuẩn độ điện thế

Milk, milk products, infant formula and adult nutritionals – Determination of chloride – Potentiometric titration method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định chloride trong sữa, sản phẩm sữa, thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và sản phẩm dinh dưỡng dành cho người lớn bằng chuẩn độ điện thế [1][2][3][4] có dải phân tích từ 0,35 mg chloride/100 g đến 711,6 mg chloride/100 g sản phẩm hoặc các sản phẩm uống liền.

2 Tài liệu viện dẫn

Trong tiêu chuẩn này không có tài liệu nào được viện dẫn.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này không có thuật ngữ nào được định nghĩa.

4 Nguyên tắc

Chloride được chiết từ mẫu bằng cách trộn trong nước ấm hoặc được phân tích trực tiếp từ các sản phẩm uống liền (RTF). Sau khi kết tủa protein (tùy chọn), các ion chloride được chuẩn độ với dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa bằng phép đo điện thế, sử dụng điện cực bạc để phát hiện điểm kết thúc chuẩn độ.

5 Thuốc thử

5.1 Nước, đã tinh sạch, nhỏ hơn 0,056 mS/cm (lớn hơn 18 M Ω) (EMD Millipore¹⁾ Corp., Billerica, MA, USA, hoặc tương đương).

¹⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho các kết quả tương đương.

5.2 Natri chloride (NaCl), độ tinh khiết $\geq 99,5\%$, chất chuẩn đã được chứng nhận để chuẩn độ, Sigma Aldrich #71387¹⁾ hoặc tương đương.

5.3 Bạc nitrat (AgNO_3), đáp ứng quy định phân tích của Dược điển châu Âu (Ph. Eur), Dược điển Anh (BP), Dược điển Mỹ (USP), độ tinh khiết phân tích đạt $99,8\%$ đến $100,5\%$, Sigma-Aldrich 10220¹⁾ hoặc tương đương.

5.4 Kali ferrocyanide trihydrat ($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), tinh khiết phân tích, thuốc thử của Viện hóa học Mỹ (ACS), thuốc thử theo ISO, thuốc thử theo dược điển châu Âu, độ tinh khiết $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich # 31524¹⁾ hoặc tương đương.

5.5 Kẽm acetat dihydrat ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), thuốc thử tinh khiết phân tích, độ tinh khiết $\geq 99,0\%$, Sigma Aldrich # 96459¹⁾ hoặc tương đương.

5.6 Acid nitric (HNO_3), độ tinh khiết tối thiểu 65% , Merck # 100452¹⁾ hoặc tương đương.

5.7 Dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa, nồng độ $c = 0,1 \text{ mol/L}$, Titripur® Reag. Ph. Eur. Raeg. USP. # 1,09081,1000 hoặc EM3214-1 hoặc chất chuẩn độ đã chuẩn hóa có sẵn để sử dụng phù hợp với GB/T 601 [5]¹⁾ hoặc tương đương.

5.8 Dung dịch chuẩn NaCl, $c = 0,1000 \text{ mol/L}$, Alfa Aesar¹⁾, # 35616, (Ward Hill, MA, Mỹ) hoặc tương đương.

5.9 Acid axetic băng 100% , tinh khiết phân tích, MERCK, # 100063¹⁾ hoặc tương đương.

5.10 Kali nitrat (KNO_3), tinh khiết phân tích, MERCK, # 105063¹⁾ hoặc tương đương.

5.11 Aceton.

5.12 Dimethylpolysiloxan, chất chống tạo bọt, Sigma-Aldrich, #DMPS2C¹⁾ hoặc tương đương.

6 Chuẩn bị dung dịch

6.1 Dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa, $c = 0,1 \text{ mol/L}$.

Nếu không có sẵn dung dịch chuẩn AgNO_3 (5.7) để sử dụng, cân $16,989 \text{ g} \pm 0,000 \text{ g}$ AgNO_3 (5.3) sấy trước trong 2 h ở nhiệt độ $120^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$. Hòa tan trong nước (5.1) và thêm nước đến vạch trong bình định mức 1 000 ml. Bảo quản trong chai thuốc thử màu nâu.

Sau khi chuẩn bị, kiểm tra độ chuẩn bằng cách chuẩn độ 5,0 ml với dung dịch NaCl chính xác $0,1 \text{ mol/L}$. Đối với dung dịch có bán sẵn hoặc dung dịch tự chuẩn bị bởi phòng thử nghiệm, kiểm tra độ chuẩn theo cách thông thường. Bảo quản dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa sao cho tránh ánh sáng, trong thời gian hai tháng.

6.2 Dung dịch NaCl, $c = 0,1 \text{ mol/L}$.

Nếu không có sẵn dung dịch chuẩn NaCl (5.8) để sử dụng, cân $5,844 \text{ g} \pm 0,000 \text{ 5 g}$ NaCl (5.2) đã sấy trước trong 2 h ở nhiệt độ $110 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Hòa tan trong nước (5.1) và thêm nước đến vạch trong bình định mức 1 000 ml. Dung dịch này bền trong thời gian một tháng.

6.3 Dung dịch kết tủa (Carrez) I.

Cân 106 g kali ferrocyanid trihydrat (5.4) và chuyển vào bình định mức 1 000 ml. Hòa tan bằng một lượng nước (5.1) thích hợp. Thêm nước (5.1) đến vạch. Trộn đều.

6.4 Dung dịch kết tủa (Carrez) II.

Cân 220 g kẽm acetat dihydrat (5.5) và chuyển vào bình định mức 1 000 ml. Hòa tan bằng một lượng nước (5.1) thích hợp và thêm 30 ml acid axetic băng (5.9). Thêm nước (5.1) đến vạch. Trộn đều.

6.5 Dung dịch HNO_3 , $c = 4 \text{ mol/L}$.

Thêm cẩn thận 100 ml HNO_3 đậm đặc (5.6) vào 300 ml nước (5.1). Trộn đều.

Tùy theo hướng dẫn của nhà sản xuất bộ lấy mẫu tự động/dụng cụ chuẩn độ, có thể sử dụng dung dịch rửa (ví dụ: aceton, dung dịch acid nitric hoặc chất khác).

6.6 Dung dịch AgNO_3 , $c = 0,025 \text{ mol/L}$ (tùy chọn).

Dùng pipet lấy 25 ml dung dịch AgNO_3 , $0,1 \text{ mol/L}$ (5.7 hoặc 6.1) cho vào bình định mức 100 ml. Thêm nước (5.1) đến vạch. Chuẩn bị dung dịch mới trước khi sử dụng. Sau đó kiểm tra độ chuẩn độ bằng cách chuẩn độ 25 ml bằng dung dịch NaCl $0,025 \text{ mol/L}$.

6.7 Dung dịch NaCl, $c = 0,025 \text{ mol/L}$ (tùy chọn).

Dùng pipet lấy 25 ml dung dịch NaCl, $0,1 \text{ mol/L}$ (5.8 hoặc 6.2) cho vào bình định mức 100 ml. Thêm nước (5.1) đến vạch. Chuẩn bị dung dịch mới trước khi sử dụng.

6.8 Dung dịch KNO_3 , $c = 1 \text{ mol/L}$.

Cân 10,11 g KNO_3 (5.10) cho vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 80 ml nước (5.1) và đặt vào bộ làm sạch bằng siêu âm (7.13) cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và thêm nước (5.1) đến vạch. Trước khi sử dụng, lọc bằng xyranh dùng một lần có màng lọc $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ (7.14).

7 Thiết bị, dụng cụ

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

7.1 Cân phân tích, có độ chính xác 0,01 mg và 0,1 mg.

7.2 Máy ly tâm, loại để bàn có rôto dùng cho ống đong dung tích 50 ml, có thể vận hành ở 4 °C và $\geq 12\,000g$.

7.3 Ống ly tâm, dung tích 50 ml, hình nón, bằng polypropylen.

7.4 Pipet, dung tích 1 ml, 10 ml, 20 ml, 50 ml và 100 ml, định mức hoặc tự động, loại A phù hợp TCVN 7153 (ISO 1042) ^[6].

7.5 Bình định mức một vạch, dung tích 50 ml, 100 ml, 500 ml và 1 000 ml, loại A phù hợp TCVN 7153 (ISO 1042) ^[6].

7.6 Ống đong chia độ, dung tích 25 ml, 100 ml và 500 ml, bằng thủy tinh.

7.7 Cốc lấy mẫu tự động, ví dụ: 120 ml, tùy thuộc vào bộ chuẩn độ được sử dụng.

7.8 Máy đo pH hoặc máy đo microvolt (mV), với thang đo $\pm 700\text{ mV}$.

7.9 Máy chuẩn độ tự động, bộ lấy mẫu tự động, buret có pittông tự động, với bộ phân phối và bộ bơm điều khiển từ xa hoặc buret thủy tinh dung tích từ 20 ml hoặc 25 ml.

Bộ lấy mẫu tự động Roundo Tower Mettler T50, phần mềm MettlerLabX 3.1 hoặc bộ lấy mẫu Metrohm 862, Dosino 800, bộ chuyển đổi 10 ml hoặc tương đương. Cũng có thể sử dụng, bộ chuẩn độ bán tự động (ví dụ: MetrohmTitrande 905/907), có phần mềm MetrohmTiamo^{TM2)} hoặc tương đương hoặc có thể sử dụng bộ chuẩn độ thủ công (sử dụng buret có thể đọc được 0,01 ml).

7.10 Điện cực vòng bạc kết hợp, ví dụ: Mettler DM 141 hoặc DMI145-SC, Metrohm Ag Titrode 6.0430.100²⁾ hoặc tương đương, Cũng có thể sử dụng điện cực bạc có điện cực so sánh.

7.11 Máy khuấy từ.

7.12 Nồi cách thủy.

7.13 Máy làm sạch bằng siêu âm.

7.14 Xyranh dùng một lần, dung tích 3 ml, có que khuấy và màng lọc xyranh dùng một lần 0,45 μm .

7.15 Bộ trộn, có thể giữ và trộn một lượng 100 ml.

²⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho các kết quả tương đương.

8 Chuẩn bị mẫu

8.1 Bột, sữa, sản phẩm từ sữa và thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh

Trộn kỹ để đảm bảo mẫu được đồng nhất. Đối với mẫu dạng bột, hòa tan 25 g mẫu trong 200 ml nước ấm 40 °C.

8.2 Phomat, phomat cứng hoặc phomat có cùi

Trước khi phân tích, loại bỏ lớp cùi hoặc lớp rìa hoặc bề mặt bị đốm của phomat để thu được mẫu phomat đại diện cho phần ăn được. Nghiền hoặc xay mẫu bằng cách sử dụng dụng cụ thích hợp. Trộn nhanh phần mẫu đã nghiền hoặc xay, nếu có thể nghiền hoặc xay lại lần hai và trộn kỹ lại. Nếu mẫu không thể nghiền hoặc xay thì trộn kỹ bằng cách khuấy và nhào trộn mạnh.

Chuyển mẫu vào vật chứa kín khí chờ phân tích, cần tiến hành phân tích càng sớm càng tốt sau khi nghiền. Nếu không phân tích ngay, thì cần tiến hành mọi biện pháp phòng ngừa để đảm bảo mẫu được bảo quản đúng cách và tránh ngưng tụ hơi ẩm trên bề mặt bên trong của vật chứa. Nhiệt độ bảo quản phải từ 10 °C đến 12 °C.

8.3 Bơ

Nếu mẫu không đồng nhất được, khi quan sát bằng mắt thường hoặc nếu lịch sử của mẫu (hạn sử dụng, điều kiện bảo quản) làm mẫu không đồng nhất như dự kiến thì cần đồng nhất mẫu như sau.

Làm ấm mẫu trong vật chứa ban đầu, chưa mở nắp, đến nhiệt độ sao cho mẫu đủ mềm, lượng chứa bên trong phải chiếm một phần ba đến hai phần ba vật chứa, để dễ dàng trộn kỹ mẫu đến trạng thái đồng nhất (bằng máy lắc hoặc bằng tay). Chú ý nhiệt độ trộn không vượt quá 30 °C.

Làm nguội mẫu đến nhiệt độ môi trường bằng cách khuấy trộn liên tục cho đến khi nguội hoàn toàn. Sau đó, mở ngay hộp đựng mẫu và khuấy nhanh (không quá 10 s) bằng dụng cụ thích hợp, ví dụ: thìa hoặc dao trộn, trước khi cân.

9 Chiết mẫu

9.1 Phomat

Cân 2 g đến 5 g mẫu đã chuẩn bị (8.2) cho vào bình chuẩn độ. Đối với phomat chế biến, cân 2,5 g. Thêm 30 ml nước (5.1) ở nhiệt độ khoảng 55 °C. Tạo huyền phù mẫu, sử dụng bộ trộn (7.15). Tráng bộ trộn bằng khoảng 10 ml nước, thu lấy nước tráng cho vào bình chuẩn độ. Thêm 2 ml đến 3 ml dung dịch HNO_3 $c = 4 \text{ mol/L}$ (6.5). Tiến hành theo 9.4.4.

9.2 Bơ

Cân 2 g đến 4 g mẫu đã chuẩn bị (8.3) cho vào bình chuẩn độ. Đối với bơ mặn, cân 2,5 g. Thêm cẩn thận 100 ml nước sôi và gia nhiệt đến sôi để tạo huyền phù mẫu thử. Làm nguội huyền phù thu được đến dưới 55 °C. Tiến hành theo 9.4.4.

9.3 Sữa, sản phẩm sữa, sản phẩm thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và sản phẩm dinh dưỡng dành cho người lớn

Tiến hành theo 9.4.3 trừ khi cần xác định độ kết tủa protein bổ sung để đạt được hiệu suất chấp nhận được. Kết tủa protein được thực hiện theo 9.4.1 đến 9.4.2.

CHÚ THÍCH: Dữ liệu xác nhận giá trị sử dụng của từng thử nghiệm cộng tác đối với các sản phẩm thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và sản phẩm dinh dưỡng dành cho người lớn (Phụ lục B) cho thấy không có sự chênh lệch giữa các kết quả đối với mẫu được xử lý có và không có kết tủa protein bổ sung. Xem Phụ lục C.

9.4 Cách tiến hành

9.4.1 Cân một lượng sản phẩm uống liền hoặc bột đã pha (8.1) đã được trộn kỹ, thích hợp (ví dụ: 25 g, chính xác đến 1 mg) cho vào ống ly tâm 50 ml. Đối với mẫu có hàm lượng chloride cao, cân phần mẫu thử nhỏ hơn (ví dụ: 5 g sản phẩm uống liền hoặc bột đã pha).

Chuyển 2,5 ml dung dịch kết tủa I (6.3) và 2,5 ml dung dịch kết tủa II (6.4) vào ống. Pha loãng đến 50 ml bằng nước. Trộn đều. Nếu có bọt ảnh hưởng đến thể tích cố định, thêm một hoặc hai giọt chất chống tạo bọt (5.12).

9.4.2 Ly tâm ở 12 000g trong 5 min ở 4 °C. Sau đó để cân bằng đến nhiệt độ phòng.

9.4.3 Chuyển chính xác 10 ml huyền phù từ bước 9.4.1 đến 9.4.2 hoặc cân một lượng thích hợp sản phẩm uống liền hoặc bột đã pha (8.1) (ví dụ: $25 \text{ g} \pm 1 \text{ g}$, cân chính xác đến 1 mg). Đối với mẫu có hàm lượng chloride cao, cân phần mẫu thử nhỏ hơn (ví dụ: $5 \text{ g} \pm 1 \text{ g}$ sản phẩm uống liền hoặc bột đã pha) cho vào cốc mẫu 120 ml hoặc cốc lấy mẫu tự động.

Thêm 5 ml dung dịch HNO_3 (6.5) và 50 ml nước trước khi chuẩn độ. Cho thanh khuấy từ vào (nếu thiết bị chuẩn độ không có thanh khuấy tích hợp). Đặt cốc hoặc cốc lấy mẫu tự động lên bộ khuấy từ và khuấy cho đến khi hòa tan hoặc tạo huyền phù hoàn toàn.

9.4.4 pH của dung dịch thử phải nhỏ hơn 1,5. Trong trường hợp có nghi ngờ, kiểm tra bằng cách dùng máy đo pH, thêm một chút dung dịch HNO_3 (6.5), nếu cần.

10 Điều kiện vận hành thiết bị

10.1 Kiểm tra và bảo dưỡng điện cực bạc kết hợp

Tráng điện cực bằng nước khử ion và lau sạch trước khi sử dụng. Định kỳ thay mới chất điện phân KNO_3

$c = 1 \text{ mol/L}$ (6.8) theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Nếu chất béo dính vào điện cực trong dây phép phân tích thì loại bỏ chất béo đó bằng cách nhúng nhanh điện cực trong acetone (5.11). Bảo quản điện cực bạc trong dung dịch KNO_3 (6.8) sau khi làm sạch thích hợp.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng riêng điện cực bạc và điện cực so sánh thay cho điện cực bạc kết hợp.

10.2 Chuẩn độ

Nồi điện cực bạc kết hợp với thiết bị chuẩn độ theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Đảm bảo rằng các bình chuẩn độ được đặt đúng trên bộ lấy mẫu tự động và có đủ thuốc thử, cả dung dịch HNO_3 (6.5), nếu được thêm tự động và dung dịch AgNO_3 (6.1) đã chuẩn hóa. Nếu không có sẵn bộ lấy mẫu tự động, dùng tay đặt các dung dịch mẫu dưới thiết bị chuẩn độ.

Đưa dung dịch rửa (6.5) vào vị trí rửa nếu sử dụng bộ lấy mẫu tự động. Đảm bảo có đủ thể tích dung dịch rửa.

Khuấy liên tục mà không chạm vào điện cực, chuẩn độ dung dịch mẫu tự động bằng dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa (6.1) cho đến khi kết thúc chuẩn độ. Xem ví dụ ở Phụ lục A. Thể tích dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa (6.1) đã sử dụng phải được ghi lại tự động và có thể đọc từ phần mềm của máy chuẩn độ hoặc tài liệu trong báo cáo vận hành của máy chuẩn độ.

Chuẩn độ thủ công sử dụng buret (7.9), bổ sung dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa (6.1) cho đến khi gần đến điểm kết thúc chuẩn độ. Tiếp tục chuẩn độ chậm lại cho đến khi đạt được điểm kết thúc quan sát được trên máy đo, với hai lần bổ sung lượng nhỏ dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa (6.1) (khoảng 0,05 ml).

10.3 Xác định mẫu chứa lượng chloride rất thấp

Khi xác định nồng độ chloride thấp (ví dụ: < (10 đến 20) mg/100 g), như trong whey bột đã khử muối, thì sử dụng dung dịch AgNO_3 đã chuẩn hóa 0,025 mol/L (6.6) để chuẩn độ sẽ cho độ chụm lớn hơn.

10.4 Phép thử trắng

Để xác định hàm lượng chloride của thuốc thử, tiến hành phép thử trắng sử dụng thuốc thử và nước (5.1) thay thế cho phần mẫu thử. Thể tích dung dịch chuẩn độ sử dụng trong phép thử trắng ở điểm kết thúc chuẩn độ phải nhỏ hơn 0,05 ml khi sử dụng dung dịch chuẩn AgNO_3 đã chuẩn hóa (5.7 hoặc 6.1) và nhỏ hơn 0,2 ml khi sử dụng dung dịch chuẩn AgNO_3 đã chuẩn hóa 0,025 mol/L (6.6). Ngoài ra, kiểm tra các thuốc thử và nước trong quy trình và tiến hành phép thử trắng so sánh cho đến khi đạt được tiêu chí.

11 Phép thử sự phù hợp của hệ thống

Trước khi sử dụng, chuyển 5 ml dung dịch NaCl (5.8 hoặc 6.2) vào cốc đựng mẫu 120 ml. Nếu chuẩn độ bằng AgNO_3 0,025 mol/L, sử dụng 1 ml dung dịch NaCl . Thêm 5 ml dung dịch HNO_3 (6.5) và 50 ml nước. Đưa dung dịch rửa (6.5) vào vị trí rửa của bộ lấy mẫu tự động. Chuẩn độ, sử dụng máy chuẩn độ tự động, bán tự động hoặc thủ công. Thực hiện ba lần lặp lại.

Tính nồng độ dung dịch AgNO₃ theo Điều 12. Chênh lệch giữa nồng độ tính được và giá trị đã chứng nhận phải nằm trong khoảng 0,5 %. Nếu nằm ngoài giá trị chấp nhận thì kiểm tra quá trình thực nghiệm và hệ thống chuẩn độ. Nếu không đạt được thì sử dụng AgNO₃ đã chuẩn hóa mới. Nếu AgNO₃ đã chuẩn hóa mới không cho kết quả có thể chấp nhận được thì thay thế chất điện phân của điện cực và kiểm tra các điều kiện vận hành của bộ phận định lượng.

12 Tính kết quả

Tính nồng độ AgNO₃, c_{snc} , biểu thị bằng mol/L, khi kiểm tra sự phù hợp của hệ thống và báo cáo kết quả đến bốn chữ số thập phân.

Nếu dùng dung dịch NaCl đã chuẩn bị (6.2), sử dụng Công thức (1):

$$c_{snc} = \frac{m_1}{5,844 \times V_1 \times 10} \tag{1}$$

Trong đó:

- m_1 là khối lượng NaCl có trong 5 ml hoặc 1 ml dung dịch NaCl (6.2), tính bằng miligam (mg);
- V_1 là thể tích của dung dịch AgNO₃ 0,1 mol/L hoặc 0,025 mol/L đã sử dụng, ở điểm kết thúc chuẩn độ, tính bằng mililit (ml);
- 5,844 là khối lượng NaCl tương ứng với 1 ml AgNO₃ 0,1 mol/L, tính bằng miligam (mg);
- 10 là hệ số khối lượng chuyển đổi từ độ chuẩn thành nồng độ của chất chuẩn.

Hoặc nếu dùng dung dịch NaCl 0,10 mol/L (5.8) loại chất chuẩn có bán sẵn, sử dụng Công thức (2):

$$c_{snc} = \frac{0,1 \times V_3}{V_1} \tag{2}$$

Trong đó:

- V_3 là thể tích của dung dịch NaCl 0,10 mol/L (5.8) được thêm vào loại chuẩn có bán sẵn, tính bằng mililit (ml);
- V_1 là thể tích của dung dịch AgNO₃ 0,1 mol/L hoặc 0,025 mol/L đã sử dụng ở điểm kết thúc chuẩn độ, tính bằng mililit (ml).

Tính phần khối lượng chloride trong mẫu, w_{cl} , biểu thị bằng mg/100 g, và báo cáo kết quả đến ba chữ số có nghĩa, sử dụng Công thức (3):

$$w_{\text{cl}} = \frac{35,45 \times c \times (V_2 - V_0) \times f \times 100}{m} \quad (3)$$

Trong đó:

- m là khối lượng mẫu thử, tính bằng gam (g);
- c là nồng độ chất chuẩn độ AgNO_3 đã được chứng nhận [0,100 0 mol/L hoặc nồng độ đã chuẩn hóa theo Công thức (1)];
- V_2 là thể tích của dung dịch AgNO_3 đã sử dụng ở điểm kết thúc chuẩn độ, tính bằng mililit (ml);
- V_0 là thể tích của dung dịch AgNO_3 đã sử dụng ở điểm kết thúc chuẩn độ dùng cho phép thử trắng (10.4), tính bằng mililit (ml);
- f là hệ số pha loãng cho việc chuẩn bị bột đã pha, sản phẩm uống liền hoặc sản phẩm cô đặc; đối với mẫu yêu cầu bước kết tủa protein (9.4.1 đến 9.4.2), hệ số bổ sung (ví dụ: $f = 5$ đối với 25 g mẫu) là cần thiết;
- 35,45 là khối lượng chloride, tương ứng với 1 ml AgNO_3 1 mol/L, tính bằng miligam (mg);
- 100 là hệ số chuyển đổi khối lượng thành mg/100 g.

13 Độ chụm

13.1 Yêu cầu chung

Chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục B. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm có thể không áp dụng cho các dải nồng độ phân tích và/hoặc nền mẫu khác với dải nồng độ và nền mẫu nêu trong Phụ lục B.

13.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ, thu được trên vật liệu thử giống hệt nhau, do cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn giới hạn lặp lại r .

Các giá trị đối với chloride nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Giá trị độ lặp lại đối với chloride

Giá trị trung bình $\bar{x}$ (mg/100 g)	Giới hạn lặp lại, r [$r = 2,8 \times s_r$], mg/100 g	Nền mẫu
385,5	6,30	Sản phẩm dinh dưỡng dạng bột có hàm lượng chất béo thấp dành cho người lớn
162,6	4,76	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn
154,2	8,37	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn
701,1	14,03	SRM 1849a
478,6	11,68	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ tập đi
42,4	1,12	Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh
510,3	15,93	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành dành cho trẻ sơ sinh
413,7	20,38	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh
330,4	10,36	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ FOS/GOS dành cho trẻ sơ sinh
386,1	7,92	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh
380,2	6,55	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh
357,3	9,97	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh
443,6	5,49	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ
372,54	8,62	Bột elemental (sản phẩm chứa acid amin tự do không có peptid) dành cho trẻ sơ sinh
35,41	3,11	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn - giả được
40,2	1,26	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn - giả được
32,4	11,20	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ - giả được
22,5	0,92	Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh - giả được
358,9	5,26	Bột elemental dành cho trẻ sơ sinh - giả được
375,5	17,67	Bơ
562,2	23,66	Phomat
169,5	6,10	Whey protein cô đặc
771,6	11,12	Sữa bột nguyên chất
95,3	3,64	Sữa nguyên chất
281,3	5,35	Whey bột

13.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ, thu được trên vật liệu thử giống hệt nhau, được báo cáo bởi hai phòng thử nghiệm khác nhau, do người thực hiện khác nhau, sử dụng thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn giới hạn tái lập R .

Các giá trị đối với chloride được nêu trong Bảng 2.

Bảng 2 – Giá trị độ tái lập đối với chloride

Giá trị trung bình $\bar{x}$ (mg/100 g)	Giới hạn tái lập, R [$R = 2,8 \times s_R$], mg/100 g	Nền mẫu
385,5	37,35	Sản phẩm dinh dưỡng dạng bột có hàm lượng chất béo thấp dành cho người lớn
162,6	11,59	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn
154,2	13,02	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn
701,1	47,99	SRM 1849a
478,6	50,32	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ tập đi
42,4	2,77	Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh
510,3	28,67	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành dành cho trẻ sơ sinh
413,7	40,46	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh
330,4	23,52	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ FOS/GOS dành cho trẻ sơ sinh
386,1	44,16	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh
380,2	24,16	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh
357,3	36,68	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh
443,6	44,24	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ
372,54	40,66	Bột elemental dành cho trẻ sơ sinh
35,41	7,14	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn - giả được

Bảng 2 (kết thúc)

Giá trị trung bình $\bar{x}$ (mg/100 g)	Giới hạn tái lập, R [$R = 2,8 \times s_R$], mg/100 g	Nền mẫu
40,2	4,37	Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn - giả được
32,4	18,90	Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ - giả được
22,5	2,21	Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh - giả được
358,9	22,48	Bột elemental dành cho trẻ sơ sinh - giả được
375,5	36,48	Bơ
562,2	44,07	Phomat
169,5	18,28	Whey protein cô đặc
771,6	51,30	Sữa bột nguyên chất
95,3	7,25	Sữa nguyên chất
281,3	28,11	Whey bột

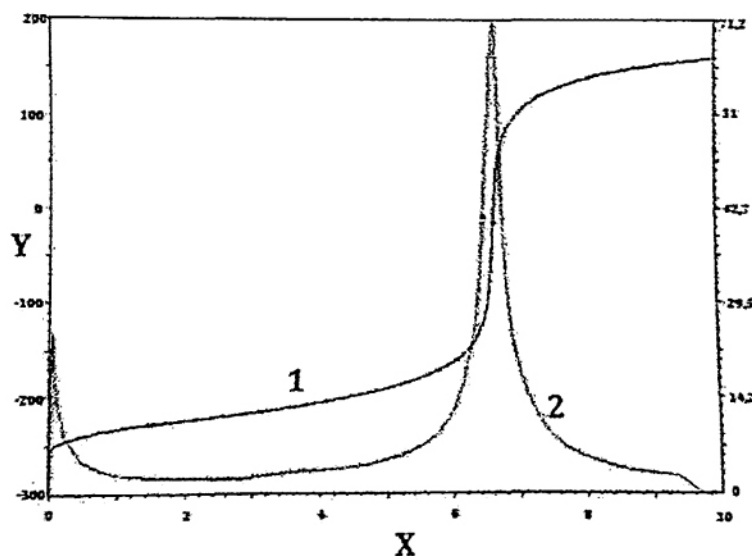
14 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm ít nhất phải bao gồm các thông tin sau:

- a) mọi thông tin cần thiết cho việc nhận biết đầy đủ về mẫu thử (loại mẫu, nguồn gốc và ký hiệu mẫu);
- b) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) ngày và loại quy trình lấy mẫu (nếu biết);
- d) ngày nhận mẫu;
- e) ngày thử nghiệm;
- f) các kết quả thử nghiệm và đơn vị biểu thị kết quả;
- g) mọi điều kiện thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được xem là tùy chọn có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Ví dụ về phép xác định điểm kết thúc chuẩn độ



CHÚ DẪN

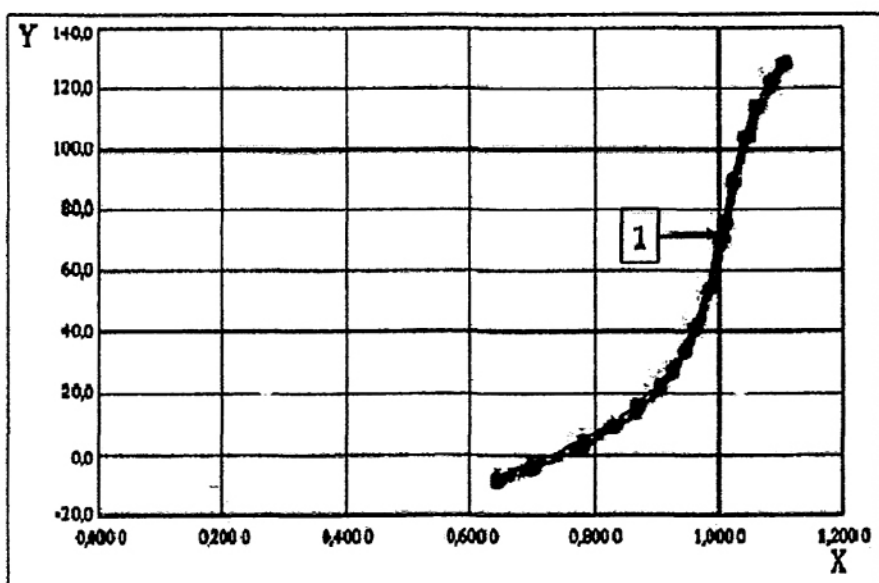
X thể tích dung dịch chất chuẩn độ AgNO_3 chuẩn hóa đã sử dụng trong quá trình chuẩn độ, tính bằng mililit (ml)

Y điện thế của điện cực bạc phát hiện trong quá trình chuẩn độ, tính bằng miliVon (mV)

1 đường chuẩn độ

2 đạo hàm bậc nhất của đường chuẩn độ được dựng theo điện thế của điện cực so với thể tích chất điện phân đã sử dụng

Hình A.1 – Nhận diện điểm kết thúc chuẩn độ tự động, sử dụng phương thức chuẩn độ động (DET U) trên thiết bị Methohm Titrand 905



Thể tích ml	Số gia ml	Tín hiệu mV	Trao đổi ion mV	Đạo hàm bậc nhất mV/ml	Thời gian s	Nhiệt độ °C
0,640 5	0,098 5	- 7,2	7,1	77,21	59	25,0
0,695 5	0,055 0	- 3,2	4,0	92,25	64	25,0
0,779 0	0,083 5	4,6	7,8	125,68	74	25,0
0,827 5	0,048 5	10,5	5,9	158,57	81	25,0
0,865 5	0,038 0	16,1	5,6	201,91	88	25,0
0,900 0	0,034 5	23,0	6,9	269,55	96	25,0
0 922 0	0,022 0	28,5	5,5	336,34	102	25,0
0 942 0	0,020 0	34,8	6,3	404,52	109	25,0
0,962 0	0,020 0	43,0	8,2	533,58	116	25,0
0,982 0	0,020 0	54,5	11,5	677,59	124	25,0
1,002 0	0,020 0	71,2	16,7	779,28	131	25,0
1,007 7		76,6		781,17		
1,022 0	0,020 0	90,2	19,0	755,93	138	25,0
1,042 0	0,020 0	105,0	14,6	636,30	144	25,0
1,062 0	0,020 0	115,2	10,2	487,45	149	25,0
1,082 0	0,020 0	122,8	7,6	376,97	154	25,0
1,103 5	0,021 5	129,1	6,3	307,43	160	25,0

CHÚ DẪN

X thể tích, tính bằng mililit (ml)

Y tín hiệu, tính bằng miliVon (mV)

1 điểm kết thúc chuẩn độ

Hình A.2 – Ví dụ về đường chuẩn độ từ máy chuẩn độ tự động Mettler

Phụ lục B
(Tham khảo)

Dữ liệu về độ chụm

Dữ liệu nêu trong Bảng B.1 thu được từ nghiên cứu liên phòng thử nghiệm quốc tế tổ chức năm 2016 phù hợp với TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[7] và Thỏa thuận hài hòa AOAC-IUPAC đối với các quy trình nghiên cứu cộng tác để đánh giá các đặc tính về độ chụm của phương pháp phân tích ^[8]. Nghiên cứu được thực hiện dựa trên các yêu cầu nêu trong Tài liệu tham khảo [9].

Bảng B.1 – Dữ liệu độ chụm đối với chloride

Mẫu	Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	Số phòng thử nghiệm ngoại lệ	Số kết quả chấp nhận được	Giá trị trung bình $\bar{x}$ mg/100 g	Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r mg/100 g	Độ lệch chuẩn tái lập, s_R mg/100 g	RSD_r % ^a	RSD_R % ^b	HorRat
Sản phẩm dinh dưỡng dạng bột có hàm lượng chất béo thấp dành cho người lớn	16	0	16	385,5	2,25	13,34	0,58	3,46	0,75
Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn	16	6	10	162,6	1,7	4,14	1,05	2,54	0,48
Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn	16	0	16	154,2	2,99	4,65	1,94	3,01	0,57
SRM 1849a	16	0	16	701,1	5,01	17,14	0,72	2,44	0,58
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ tập đi	16	0	16	478,6	4,17	17,97	0,87	3,76	0,84
Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh	16	1	15	42,4	0,40	0,99	0,94	1,21	0,36
^a độ lệch chuẩn tương đối lặp lại. ^b độ lệch chuẩn tương đối tái lập. ^c mẫu thử thực nghiệm dạng lỏng có thể bị hỏng/tách.									

Bảng B.1 (tiếp theo)

Mẫu	Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	Số phòng thử nghiệm ngoại lệ	Số kết quả chấp nhận được	Giá trị trung bình $\bar{X}$ mg/100 g	Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r mg/100 g	Độ lệch chuẩn tái lập, s_R mg/100 g	RSD_r % ^a	RSD_R % ^b	HorRat
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành dành cho trẻ sơ sinh	16	2	14	510,3	5,69	10,24	1,12	2,01	0,45
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh	16	1	15	413,7	7,28	14,45	1,76	3,49	0,76
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ FOS/GOS dành cho trẻ sơ sinh	16	1	15	330,4	3,7	8,4	1,12	2,54	0,54
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh	16	1	15	386,1	2,83	15,77	0,73	4,08	0,88
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh	16	2	14	380,2	2,34	8,63	0,61	2,27	0,49
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh	16	3	13	357,3	3,56	13,10	1,00	3,67	0,78
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ	16	0	16	443,6	1,96	15,8	0,44	3,56	0,79
Bột elemental dành cho trẻ sơ sinh	16	0	16	372,54	3,08	14,52	0,83	3,9	0,84
Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn - già được	16	8	8	35,41	1,11	2,55	3,14 ^c	7,21 ^c	1,09
^a độ lệch chuẩn tương đối lặp lại. ^b độ lệch chuẩn tương đối tái lập. ^c mẫu thử thực nghiệm dạng lỏng có thể bị hỏng/tách.									

Bảng B.1 (kết thúc)

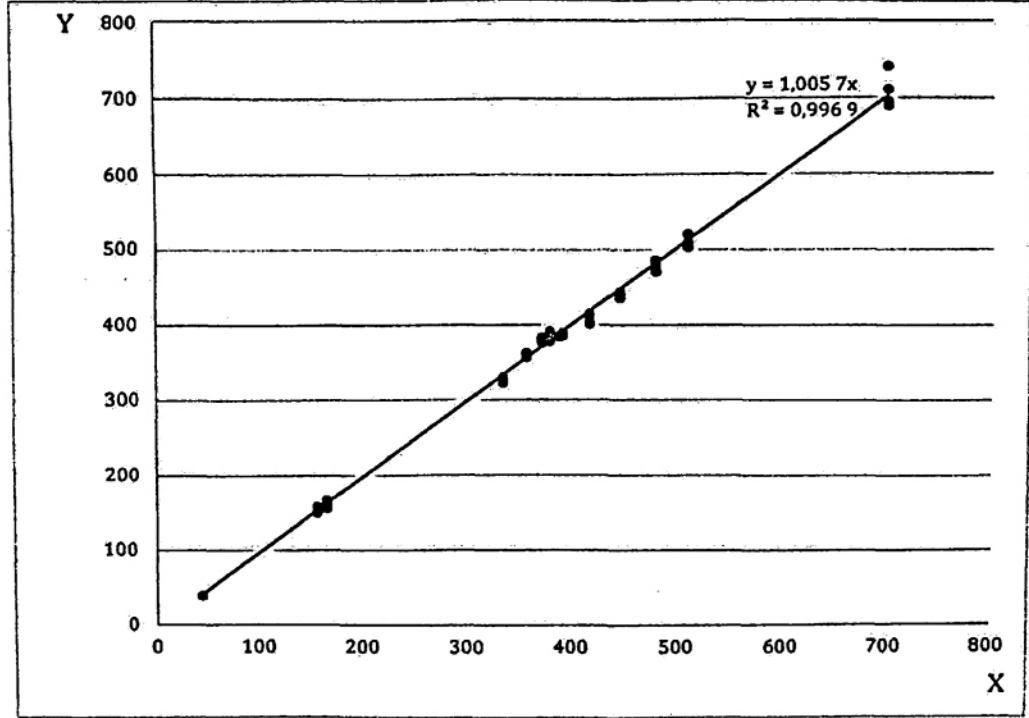
Mẫu	Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	Số phòng thử nghiệm ngoại lệ	Số kết quả chấp nhận được	Giá trị trung bình $\bar{x}$ mg/100 g	Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r mg/100 g	Độ lệch chuẩn tái lập, s_R mg/100 g	RSD_r % ^a	RSD_R % ^b	HorRat
Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn - già được	16	5	11	40,2	0,45	1,56	1,12	3,89	0,60
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ - già được	16	5	11	32,4	4,0	6,75	12,4 ^c	20,8 ^c	3,11
Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh - già được	16	0	16	22,5	0,33	0,79	1,49	3,5	0,49
Bột elemental dành cho trẻ sơ sinh - già được	16	0	16	358,9	1,88	8,03	0,52	2,24	0,48
Bơ	13	1	12	375,5	6,31	13,03	1,68	3,47	0,75
Phomat	13	1	12	562,2	8,45	15,74	1,5	2,8	0,64
Whey protein cô đặc	13	3	10	169,5	2,18	6,53	1,28	3,85	0,74
Sữa bột nguyên chất	13	0	13	711,6	3,97	18,32	0,56	2,57	0,61
Sữa nguyên chất	12	1	11	95,3	1,30	2,59	1,37	2,72	0,48
Whey bột	12	3	9	281,3	1,91	10,04	0,68	3,57	0,74
Các yêu cầu theo Tài liệu tham khảo [9]:							≤ 2 %	≤ 4 %	
^a độ lệch chuẩn tương đối lặp lại.									
^b độ lệch chuẩn tương đối tái lập.									
^c mẫu thử thực nghiệm dạng lỏng có thể bị hỏng/tách.									

Phụ lục C
(Tham khảo)

So sánh các kết quả giữa việc chiết mẫu có hoặc không có kết tủa protein bổ sung

Đối với các mẫu thức ăn công thức dành cho trẻ sơ sinh và sản phẩm dinh dưỡng dành cho người lớn trong nghiên cứu liên phòng thử nghiệm, bốn phòng thử nghiệm thực hiện phân tích chloride với bước kết tủa protein bổ sung như mô tả trong 9.3, trong đó mười phòng thử nghiệm phân tích các mẫu không có bước kết tủa protein bổ sung.

Hình C.1 cho thấy các kết quả của các phòng thử nghiệm thực hiện bước kết tủa protein ($N = 4$) được dựng dựa trên kết quả trung bình của các phòng thử nghiệm ($N = 10$) tiến hành phép phân tích không có bước kết tủa protein.



CHÚ DẪN

X giá trị không có kết tủa protein bổ sung, tính bằng mg/100 g, $N = 10$

Y giá trị có kết tủa protein bổ sung, tính bằng mg/100 g, $N = 4$

Hình C.1 – So sánh các giá trị chloride có và không có kết tủa bổ sung

Để chứng minh sự thay đổi ổn định trong các kết quả giữa bốn phòng thử nghiệm được thực hiện phân tích có bước kết tủa bổ sung, tính điểm z dựa trên phép đo SD_R đối với các phòng thử nghiệm phân tích các mẫu không có bước kết tủa protein bổ sung. Ngoài ra, điểm z của bốn phòng thử nghiệm thực hiện phân tích có bước kết tủa bổ sung được tính dựa trên SD_R đích tối đa đối với phương pháp là 4 %. Các kết quả của phép tính này nêu trong Bảng C.1.

Bảng C.1 – Dữ liệu z-score đối với chloride

Nền mẫu	Giá trị trung bình đối với các phòng thử nghiệm không có bước kết tủa protein bổ sung (mg/100 g)	Z-score ([tối thiểu...tối đa], $N = 4$), dựa trên SD_R đối với các phòng thử nghiệm không có bước kết tủa bổ sung	Z-score ([tối thiểu...tối đa], $N = 4$), dựa trên SD_R đích đối với phương pháp là 4 %)
Thức ăn công thức uống liền có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh (dạng lỏng)	42,4	-0,21 đến 0,4	-0,14 đến 0,25
Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng protein cao dành cho người lớn (dạng lỏng)	154,0	-0,39 đến 1,04	0,32 đến 1,07
Sản phẩm dinh dưỡng uống liền có hàm lượng chất béo cao dành cho người lớn (dạng lỏng)	162,0	-1,14 đến 1,89	-0,70 đến 1,08
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ FOS/GOS dành cho trẻ sơ sinh	331,7	-0,93 đến -0,08	-0,64 đến -0,05
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh	355,1	0,22 đến 0,65	0,24 đến 0,68
Bột elemental dành cho trẻ sơ sinh	369,5	0,59 đến 1,00	0,60 đến 1,01
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh	378,2	0,08 đến 1,59	0,05 đến 0,91
Sản phẩm dinh dưỡng dạng bột chất béo thấp dành cho người lớn	386,4	-0,15 đến 0,22	-0,05 đến 0,07
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành thủy phân một phần dành cho trẻ sơ sinh	384,8	0,11 đến 0,4	0,13 đến 0,47
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ sơ sinh	415,3	-0,71 đến 0,00	-0,72 đến 0,00
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ nhỏ	444,6	-0,43 đến 0,01	-0,44 đến 0,01
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ sữa dành cho trẻ tập đi	478,9	-0,37 đến 0,40	-0,40 đến 0,42
Thức ăn công thức dạng bột có nguồn gốc từ đậu nành dành cho trẻ sơ sinh	510,0	-0,56 đến 1,04	-0,29 đến 0,53
SRM 1849a	698,0	0,47 đến 3,11	-0,24 đến 1,50

Từ các kết quả trong Bảng C.1, có thể kết luận rằng hầu hết các nền mẫu ($N = 14$), phòng thử nghiệm ($N = 4$) có điểm z dưới 1,5.

Dựa trên các kết quả trong đồ thị và bảng trên, có thể kết luận các kết quả ổn định giữa các phòng thử nghiệm thực hiện bước kết tủa protein ($N = 4$) khi so sánh với các phòng thử nghiệm ($N = 10$) thực hiện phân tích không có bước kết tủa protein.