

TCVN 7810:2007

ISO 6560:1983

Xuất bản lần 1

**SẢN PHẨM RAU, QUẢ –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AXIT BENZOIC
(HÀM LƯỢNG AXIT BENZOIC LỚN HƠN
200 mg TRÊN LÍT HOẶC TRÊN KILOGAM) –
PHƯƠNG PHÁP ĐO PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ**

*Fruit and vegetable products – Determination of benzoic acid content
(benzoic acid content greater than 200 mg per litre or per kilogram) –
Molecular absorption spectrometric method*

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 7810:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 6560:1983;

TCVN 7810:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F10 *Rau quả và sản phẩm rau quả* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

**Sản phẩm rau, quả – Xác định hàm lượng axit benzoic
(hàm lượng axit benzoic lớn hơn 200 mg trên lít hoặc trên kilogam)
– Phương pháp đo phổ hấp thụ phân tử**

*Fruit and vegetable products – Determination of benzoic acid content
(benzoic acid content greater than 200 mg per litre or per kilogram) –*

Molecular absorption spectrometric method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng axit benzoic trong sản phẩm rau, quả.

Phương pháp này cũng có thể áp dụng cho các sản phẩm có hàm lượng axit benzoic lớn hơn 200 mg trên lít hoặc trên kilogam, đặc biệt cho nước quả, nước cà chua nghiền có hoặc không có bổ sung muối, và cho các sản phẩm bảo quản bằng dấm hoặc axit lactic.

Phương pháp xác định hàm lượng axit benzoic có nồng độ thấp hơn được quy định trong ISO 5581 Fruit, vegetable and derived products – Determination of benzoic acid content – Spectrophotometric method (*Rau, quả và sản phẩm rau, quả – Xác định hàm lượng axit benzoic – Phương pháp quang phổ*).

2 Nguyên tắc

Tách axit benzoic bằng diethyl ete từ phần mẫu thử được axit hóa, nitrat hóa sau đó khử và phản ứng Mohler cải biến bằng hydroxylamin hydrochlorua. Đo độ hấp thụ của phức chất màu đỏ tạo thành.

3 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải có chất lượng phân tích và nước được sử dụng phải là nước cất hay ít nhất là nước có độ tinh khiết tương đương.

3.1 Axit benzoic, dung dịch chuẩn tương ứng với 1 g axit benzoic trên lít.

Cân 100 mg axit benzoic, chính xác đến 0,0001 g rồi hòa tan trong 25 ml dung dịch natri hydroxit 0,1 mol/l và pha loãng đến 100 ml bằng nước.

1 ml dung dịch chuẩn này chứa 1 mg axit benzoic.

3.2 Dung dịch nitrat hóa

Hòa tan 23 g kali nitrat trong 250 ml dung dịch axit sulfuric đậm đặc ($\rho_{20} = 1,84$ g/ml).

3.3 Hydroxylamin hydroclorua, dung dịch nồng độ 20 g/l.

3.4 Dung dịch amoniac đậm đặc ($\rho_{20} = 0,910$ g/ml).

3.5 Dung dịch phenolphtalein.

Hòa tan 1g phenolphtalein trong 100 ml dung dịch ethanol 60 % (theo thể tích).

3.6 Natri hydroxit, dung dịch 1 mol/l.

3.7 Natri hydroxit, dung dịch 0,1 mol/l.

3.8 Axit sulfuric, dung dịch 25 % (m/m).

3.9 Dung dịch Carrez I

Hòa tan 150 g kali hexacyanoferrat (II) ngậm ba phân tử nước ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) trong nước và pha loãng đến 1000 ml.

3.10 Dung dịch Carrez II

Hòa tan 300 g kẽm sulfat ngậm bảy phân tử nước ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) trong nước và pha loãng đến 1 000 ml.

3.11 Dietyl ete, mới chưng cất.

4 Thiết bị, dụng cụ

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

- 4.1 **Phễu chiết**, dung tích 200 ml, có nút mài.
- 4.2 **Pipet**, dung tích 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml và 50 ml.
- 4.3 **Pipet**, dung tích 2 ml có vạch chia độ 0,1 ml.
- 4.4 **Bình định mức**, dung tích 10 ml và 100 ml, có nút thủy tinh mài.
- 4.5 **Nồi cách thủy**.
- 4.6 **Ống nghiệm**, đường kính 1,5 cm hoặc 2,0 cm.
- 4.7 **Tủ sấy**, có khả năng duy trì nhiệt độ ở $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 4.8 **Nồi cách thủy**, có khả năng duy trì nhiệt độ ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 4.9 **Nồi cách thủy**, có khả năng duy trì nhiệt độ ở $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 4.10 **Máy đo phổ**, phù hợp để đo ở bước sóng 533 nm với cuvet có đường quang 10 mm.

5 Cách tiến hành

5.1 Chuẩn bị mẫu thử

5.1.1 Sản phẩm dạng lỏng

Trộn kỹ mẫu thử.

5.1.2 Sản phẩm dạng bán lỏng (ví dụ như cà chua nghiền ...)

Trộn kỹ mẫu thử. Ép một phần mẫu thử qua vải mỏng bốn lớp, bỏ những giọt chất lỏng đầu tiên, sử dụng phần dịch còn lại để xác định. (Theo hướng dẫn đối với sản phẩm dạng lỏng).

5.1.3 Sản phẩm dạng đặc

Trộn kỹ mẫu thử.

5.2 Phần mẫu thử

5.2.1 Sản phẩm dạng lỏng

Dùng pipet (4.2) lấy 10 ml mẫu thử rồi chuyển vào phễu chiết 200 ml (4.1).

5.2.2 Sản phẩm dạng đặc

5.2.2.1 Cân 10 g mẫu thử, chính xác đến 0,01 g.

5.2.2.2 Làm trong phần mẫu thử như sau:

Thêm một ít nước vào mẫu thử và kiểm hóa bằng cách bổ sung dung dịch natri hydroxit (3.6) với sự có mặt của dung dịch phenolphthalein (3.5). Đặt mẫu thử vào nồi cách thủy (4.5) trong vòng 30 min. Sau khi nguội chuyển sang bình định mức 100 ml, thêm 2 ml dung dịch Carrez 1 (3.9) và 2 ml dung dịch Carrez II (3.10) rồi thêm nước đến vạch. Sau 30 min cho ly tâm hoặc lọc. Sử dụng phần dung dịch lọc này để tách chiết (5.3).

5.3 Tách chiết và tinh sạch axit benzoic

5.3.1 Sản phẩm dạng lỏng

Thêm 2 ml dung dịch axit sulfuric (3.8) vào phần mẫu thử trong phễu chiết. Thêm 25 ml dietyl ete (3.11), lắc đều, để cho ete tách pha. Lặp lại quá trình chiết này một lần nữa sử dụng 25 ml dietyl ete. Trộn các pha ete với nhau.

Tách axit benzoic từ pha ete bằng cách thêm tiếp 2 ml dung dịch natri hydroxit (3.6) với 1 giọt dung dịch phenolphthalein, sau đó lắc đều trong 5 min. Tách pha kiềm. Sau đó chiết hai lần với 2 ml dung dịch natri hydroxit (3.7). Thu các pha kiềm vào bình định mức dung tích 10 ml (4.4) và pha loãng với nước đến vạch.

5.3.2 Sản phẩm dạng đặc

Thêm 50 ml dung dịch axit sulfuric (3.8) vào 50 ml dịch thu được sau khi làm trong (5.2.2.2). Thêm tiếp 50 ml dung dịch dietyl ete (3.11), lắc đều, để cho ete tách pha. Lặp lại quá trình chiết này hai lần với 50 ml dung dịch dietyl ete. Trộn các pha ete trong phễu chiết dung tích 200 ml (4.1).

Thêm 5 ml nước, lắc đều và loại bỏ pha nước.

Thêm 2 ml dung dịch natri hydroxit (3.6) vào pha ete và lắc đều (natri benzoat sinh ra trong quá trình này). Tách lấy pha kiềm. Chiết hai lần bằng cách lắc với 2 ml dung dịch natri hydroxit (3.7). Thu hồi các pha kiềm vào bình định mức dung tích 10 ml (4.4) và pha loãng nước đến vạch.

5.4 Phương pháp xác định

5.4.1 Hiện mẫu

Tùy thuộc vào hàm lượng axit benzoic dự kiến, chuyển từ 0,5 ml đến 1,0 ml dịch chiết kiềm vào ống nghiệm (4.6) và cho bay hơi đến khô trong nồi cách thủy (4.5). Sau đó chuyển sang tủ sấy (4.7) và sấy trong 15 min ở nhiệt độ $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Để nguội, thêm 1 ml dung dịch nitrat hóa (3.2) và đặt vào nồi cách thủy trong vòng 20 min. (Nên lắc đều ống nghiệm trong những phút đầu tiên).

Chuyển sang nồi cách thủy (4.8) giữ ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 15 min. Cẩn thận thêm 2 ml nước và đợi thêm 15 min. Thêm tiếp 10 ml dung dịch amoniac (3.4) như sau: với 5 ml đầu tiên nhỏ từng giọt 0,5 ml, 5 ml còn lại nhỏ từng giọt 1 ml. Để yên trên nồi cách thủy trong 15 min, chú ý không để nhiệt độ của nồi cách thủy vượt quá $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Thêm 2 ml dung dịch hydroxylamin hydroclorua (3.3) và chuyển sang nồi cách thủy (4.9) giữ ở nhiệt độ $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong vòng 5 min.

5.4.2 Đo phổ

Làm nguội ống nghiệm, hút lấy dung dịch cho vào cuvet và đo độ hấp thụ ở bước sóng 533 nm trong 30 min sau đó bằng máy đo phổ (4.10).

5.5 Dụng đường chuẩn

5.5.1 Chuẩn bị dung dịch chuẩn

Dùng pipet lấy dung dịch axit benzoic chuẩn vào 5 ống nghiệm như trong bảng dưới đây.

Thể tích dung dịch axit benzoic chuẩn (3.1)	Khối lượng axit benzoic tương ứng
ml	mg
0,6	0,6
0,8	0,8
1,0	1,0
1,2	1,2
1,4	1,4

5.5.2 Hiện mẫu

Đặt các ống nghiệm này vào nồi cách thủy và cho bay hơi đến khô. Sau đó chuyển vào tủ sấy ở nhiệt độ $103\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong vòng 15 min trong tủ sấy (4.7).

Tiến hành theo 5.4.1 từ đoạn thứ 2 ["Để nguội rồi thêm 1 ml dung dịch nitrat hóa (3.2) ..."].

5.5.3 Đo phổ

Tiến hành như mô tả trong 5.4.2.

5.5.4 Vẽ đồ thị

Vẽ đồ thị với trục hoành là khối lượng axit benzoic trong dung dịch chuẩn, tính theo microgam, và trục tung là độ hấp thụ phổ tương ứng.

5.6 Số lần xác định

Thực hiện hai phép xác định trên phần mẫu thử lấy từ cùng một mẫu thử (5.1).

6 Biểu thị kết quả

6.1 Phương pháp tính và công thức

6.1.1 Sản phẩm dạng lỏng

Hàm lượng axit benzoic, tính bằng miligam trên lít, tính theo công thức sau đây:

$$\frac{m \times V_2}{V_1 \times V_3} \times 1000$$

trong đó

m là khối lượng của axit benzoic tính được từ đường chuẩn, tính bằng miligam;

V_1 là thể tích của phần mẫu thử, tính bằng mililít, nghĩa là 10 ml (xem 5.2.1);

V_2 là thể tích của dịch chiết kiểm, tính bằng mililít, nghĩa là 10 ml (xem 5.3);

V_3 là thể tích của dịch chiết kiểm sử dụng trong phản ứng hiện màu, tính bằng mililít (xem 5.4.1).

6.1.2 Sản phẩm dạng đặc

Hàm lượng axit benzoic, tính bằng miligam trên lít, tính theo công thức sau đây:

$$\frac{m_2 \times V_1 \times V_3}{m_1 \times V_2 \times V_4} \times 1000$$

trong đó

m_1 là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam;

m_2 là khối lượng của axit benzoic tính được từ đường chuẩn, tính bằng miligam;

V_1 là thể tích của dung dịch lọc đã chuẩn bị, tính bằng mililít (xem 5.2.2);

V_2 là thể tích của dung dịch lọc đã dùng để tách chiết, tính bằng mililít, nghĩa là 50 ml (xem 5.3.2);

V_3 là thể tích của dịch chiết kiểm, tính bằng mililít, nghĩa là 10 ml (xem 5.3);

V_4 là thể tích của dịch chiết kiểm sử dụng trong phản ứng tạo màu, tính bằng mililít (xem 5.4.1).

6.2 Độ lặp lại

Chênh lệch giữa kết quả của hai lần xác định (5.6) do cùng một người thực hiện liên tiếp, không được vượt quá 10 mg axit benzoic trên lít hoặc trên kilogam sản phẩm.

7 Chú ý khi tiến hành

Sự có mặt của axit formic và axit sorbic không làm ảnh hưởng đến kết quả xác định axit benzoic.

8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ phương pháp sử dụng và kết quả thu được. Báo cáo cũng phải nêu rõ mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Báo cáo thử nghiệm cũng phải bao gồm mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử.
