

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 6268-1:2007

ISO 14673-1:2004

Xuất bản lần 1

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
NITRAT VÀ NITRIT –
PHẦN 1: PHƯƠNG PHÁP KHỬ BẰNG CADIMI
VÀ ĐO PHỔ**

*Milk and milk products – Determination of nitrate and nitrite contents –
Part 1: Method using cadmium reduction and spectrometry*

HÀ NỘI 2007

Lời nói đầu

TCVN 6268-1:2007 thay thế TCVN 6268:1997;

TCVN 6268-1:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 14673-1:2004;

TCVN 6268-1:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F12 *Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

TCVN 6268:2007 (ISO 14673:2004) *Sữa và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng nitrat và nitrit*, bao gồm các phần sau:

- Phần 1: Phương pháp khử cadimi và đo phổ;
- Phần 2: Phương pháp phân tích dòng phân đoạn (Phương pháp thông thường);
- Phần 3: Phương pháp khử cadimi và phân tích bơm dòng có thẩm tách nối tiếp (Phương pháp thông thường).

Sữa và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng nitrat và nitrit – Phần 1: Phương pháp khử bằng cadimi và đo phổ

*Milk and milk products – Determination of nitrate and nitrite contents –
Part 1: Method using cadmium reduction and spectrometry*

CẢNH BÁO – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong sữa và sản phẩm sữa bằng cách khử cadimi và đo phổ. Phương pháp này có thể áp dụng cho:

- sữa bột nguyên chất, sữa bột tách một phần chất béo và sữa bột gầy;
- phomat mềm, bán cứng và cứng;
- phomat nấu chảy;
- phomat whey, casein và caseinat và whey bột.

Phương pháp này có thể thực hiện bằng cách sử dụng thiết bị tự động, cụ thể là bằng cách phân tích dòng phân đoạn (SFA) hoặc phân tích bơm dòng (FIA), như vậy giảm được nhiễm bẩn cadimi trong khu vực thử nghiệm và nước thải.

TCVN 6268-1:2007

CHÚ THÍCH Các phương pháp này được qui định trong TCVN 6268-2 (ISO 14673-2) và TCVN 6268-3 (ISO 14673-3) tương ứng.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 7150-1 (ISO 835-1), Dụng cụ thí nghiệm bằng thuỷ tinh. Pipet chia độ. Phần 1: Yêu cầu chung.

TCVN 7151 (ISO 648), Dụng cụ thí nghiệm bằng thuỷ tinh. Pipet một mức.

TCVN 7153 (ISO 1042), Dụng cụ thí nghiệm bằng thuỷ tinh. Bình định mức.

ISO 565, Test sieves – Metal wire cloth, perforated metal plate and electroformed sheet – Nominal sizes of openings (Sàng thử nghiệm – Lưới kim loại, tấm kim loại đục lỗ và tấm đúc điện)

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

3.1

Hàm lượng nitrat (nitrate content)

Phần khối lượng nitrat xác định được bằng qui trình qui định trong tiêu chuẩn này

CHÚ THÍCH Hàm lượng nitrat được biểu thị theo miligam ion nitrat (NO_3^-) trên kilôgam sản phẩm.

3.2

Hàm lượng nitrit (nitrite content)

Phần khối lượng nitrit xác định được bằng qui trình qui định trong tiêu chuẩn này

CHÚ THÍCH Hàm lượng nitrit được biểu thị theo miligam ion nitrit (NO_2^-) trên kilôgam sản phẩm.

4 Nguyên tắc

Phần mẫu thử được hoà tan trong nước ấm, cho kết tủa chất béo và protein, sau đó lọc. Các ion nitrat trong phần dịch lọc được khử về ion nitrit bằng cadimi mạ đồng.

Thêm sulfanilamit và N-1 naphthyl-etylendiamin dihydroclorua để tạo màu đỏ trong cả hai phần dịch lọc chưa khử và dung dịch khử nitrat và đo phổ ở bước sóng 538 nm.

Tính hàm lượng nitrit của mẫu thử và hàm lượng nitrit tổng số sau khi khử các ion nitrat bằng cách so sánh độ hấp thụ đo được với độ hấp thụ của dãy dung dịch hiệu chuẩn natri nitrit. Tính hàm lượng nitrat từ sự chênh lệch của hai hàm lượng này.

5 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải thuộc loại phân tích, trừ khi có qui định khác.

5.1 Nước, đã cất hoặc nước đã loại ion, hoặc nước có chất lượng tương đương, không chứa các ion nitrat và nitrit.

Để tránh khả năng tạo các bọt khí nhỏ trong cột cadimi mạ đồng (9.1.6), sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion vừa mới đun sôi và làm nguội đến nhiệt độ phòng. Sử dụng nước như thế để chuẩn bị cột (9.1), để kiểm tra khả năng khử của cột (9.2) và để phục hồi cột (9.3).

5.2 Cadimi dạng hạt, có đường kính từ 0,3 mm đến 0,8 mm.

Nếu như các hạt cadimi không sẵn có trên thị trường thì có thể chuẩn bị như sau:

Đặt một số que kẽm thích hợp vào cốc có mỏ. Phủ lên trên que một lớp dung dịch cadimi sulfat (5.3). Thỉnh thoảng cạo bọt xốp cadimi từ các que kẽm trong khoảng thời gian trên 24 h. Lấy que kẽm ra và gạt lấy chất lỏng cho đến khi chỉ còn một lớp ngậm cadimi. Rửa bọt xốp hai hoặc ba lần bằng nước cất. Chuyển bọt xốp cadimi sang máy trộn phòng thử nghiệm cùng với 400 ml dung dịch làm việc axit clohydric (5.7) và trộn vài giây để thu được các hạt có kích cỡ theo yêu cầu. Lấy lượng chứa từ máy trộn cho lại vào cốc có mỏ và để yên trong vài giờ, thỉnh thoảng khuấy để làm tan bọt khí. Gạt phần lớn chất lỏng và mạ đồng ngay các hạt theo qui định trong 9.1.

CẢNH BÁO Vi cadimi rất độc, nên khi thải bỏ cần được chuyển đi theo qui định như chất thải hoá học.

5.3 Dung dịch cadimi sulfat, $c(\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}) = 40 \text{ g/l}$.

Hoà tan 40 g dung dịch cadimi sulfat trong nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

5.4 Dung dịch đồng (II) sulfat, $c(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 20 \text{ g/l}$

Hoà tan 20 g đồng (II) sulfat trong nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

5.5 Axit clohydric (HCl), ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$).

5.6 Axit clohydric loãng, $c(\text{HCl}) \approx 2 \text{ mol/l}$.

Cẩn thận cho 160 ml axit clohydric (5.5) vào khoảng 700 ml nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4) trong khi vẫn xoay bình. Làm nguội lượng chứa trong bình đến nhiệt độ phòng. Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

5.7 Dung dịch làm việc axit clohydric, $c(\text{HCl}) \approx 0,1 \text{ mol/l}$.

Cho 50 ml axit clohydric loãng (5.6) vào bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

5.8 Dung dịch kẽm sulfat, $c(\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}) = 535 \text{ g/l}$.

Hoà tan 53,5 g kẽm sulfat trong nước đựng trong bình định mức 100 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

5.9 Dung dịch kali hexaxyanoferrat (II), $c(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}) = 172 \text{ g/l}$.

Hòa tan trong nước 17,2 g kali hexaxianoferrat (II) ngâm ba phần tử nước trong bình định mức 100 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

5.10 Dung dịch dinatri etylendiamintetra axetat ngậm hai phân tử nước (EDTA) ($\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

Hoà tan 33,5 g EDTA trong khoảng 900 ml nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

5.11 Dung dịch I

Cẩn thận cho 450 ml axit clohydric (5.5) vào bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

5.12 Dung dịch II

Hoà tan 0,5 g sulfanilamit ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$) trong hỗn hợp của 75 ml nước và 5 ml axit clohydric (5.5) đựng trong bình định mức 100 ml (6.4), bằng cách đun nóng trên nồi cách thuỷ (6.15). Làm nguội đến nhiệt độ phòng. Pha bằng nước đến vạch và trộn. Lọc dung dịch thu được, nếu cần.

5.13 Dung dịch III

Hoà tan 0,1 g N-1-naphtyl-etylendiamin dihydro clorua ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$) trong nước đựng trong bình định mức 100 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch. Lọc dung dịch thu được, nếu cần.

Dung dịch này có thể bảo quản trong chai nâu, đậy nút chặt để trong tủ lạnh đến 1 tuần

5.14 Dung dịch gốc natri nitrit (NaNO_2)

Sấy khô một vài gam natri nitrit trong tủ sấy (6.16) ở nhiệt độ từ 110 °C đến 120 °C đến khối lượng không đổi (nghĩa là cho đến khi chênh lệch giữa hai lần cân liên tiếp không vượt quá 1 mg). Hoà tan 0,150 g natri nitrit trong nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

5.15 Dung dịch làm việc natri nitrit

Chuẩn bị dung dịch làm việc natri nitrit trong ngày sử dụng. Dùng pipet (6.5) chuyển 10 ml dung dịch gốc (5.14) và 20 ml dung dịch đệm (5.19) vào bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Hàm lượng nitrit của dung dịch làm việc natri nitrit này là 1 µg/ml.

5.16 Dung dịch gốc kali nitrat (KNO_3)

Sấy khô một vài gam kali nitrat trong tủ sấy (6.16) ở nhiệt độ từ 110 °C đến 120 °C đến khối lượng không đổi (nghĩa là cho đến khi chênh lệch giữa hai lần cân liên tiếp không vượt quá 1 mg). Hoà tan 1,468 g kali nitrat trong nước trong bình định mức 1000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

5.17 Dung dịch làm việc kali nitrat

Chuẩn bị dung dịch làm việc kali nitrat trong ngày sử dụng. Dùng pipet (6.5) chuyển 5 ml dung dịch gốc kali nitrat (5.16) và 20 ml dung dịch đệm (5.19) vào bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Hàm lượng nitrat của dung dịch làm việc kali nitrat này là 4,50 µg/ml.

5.18 Dung dịch amoniac (NH_3), ($\rho_{20} = 0,91$ g/ml)

Nếu không sẵn có dung dịch amoniac với nồng độ ở trên thì có thể sử dụng một lượng tương đương của dung dịch amoniac đậm đặc hơn như trong 5.19 [ví dụ: 103 ml dung dịch amoniac 35 % (phần khối lượng) ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml)].

5.19 Dung dịch đệm, pH từ 9,6 đến 9,7

Pha loãng 50 ml axit clohydric (5.5) bằng 600 ml nước trong bình nón (6.3) và trộn. Thêm 135 ml dung dịch amoniac (5.18) và pha loãng bằng 215 ml nước đến 1 000 ml. Chính pH về khoảng từ 9,6 đến 9,7, nếu cần.

6 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các dụng cụ thủy tinh phải được rửa sạch và tráng bằng nước cất để đảm bảo không còn chứa các ion nitrat và nitrit.

TCVN 6268-1:2007

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

- 6.1 **Cân phân tích**, có thể cân chính xác đến 1 mg và có thể đọc đến 0,1 mg.
- 6.2 **Bình đựng mẫu**, có nắp đậy kín khí.
- 6.3 **Bình nón**, dung tích 250 ml, 500 ml và 1 000 ml.
- 6.4 **Bình định mức**, dung tích danh định 100 ml, 500 ml và 1 000 ml, phù hợp với yêu cầu của TCVN 7153 (ISO 1042), loại B.
- 6.5 **Pipet**, có thể phân phối 2 ml, 4 ml, 5 ml, 6 ml, 8 ml, 10 ml, 12 ml, 20 ml và 25 ml, phù hợp với TCVN 7151 (ISO 648), loại A, hoặc TCVN 7150-1 (ISO 835-1). Có thể sử dụng buret thay cho pipet, khi có thể.
- 6.6 **Ống đong**, dung tích 5 ml, 10 ml, 25 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml và 1 000 ml.
- 6.7 **Phễu thuỷ tinh**, có đường kính khoảng 7 cm, có đuôi ngắn.
- 6.8 **Giấy lọc**, loại trung bình, có đường kính khoảng 15 cm, không chứa các ion nitrat và nitrit.
- 6.9 **Cột khử**, bằng thuỷ tinh, ví dụ được nêu ở hình 1.
- 6.10 **Máy đo phổ**, thích hợp để đo ở bước sóng 538 nm với cuvet có chiều dài đường quang từ 1 cm đến 2 cm.
- 6.11 **Dụng cụ nghiền**, thích hợp cho việc nghiền mẫu, nếu cần. Để tránh hao hụt độ ẩm, thì dụng cụ nghiền không được gia nhiệt. Không sử dụng búa.
- 6.12 **Máy trộn phòng thử nghiệm** hoặc **thiết bị đồng hoá**, có hộp đựng mẫu bằng thuỷ tinh dung tích 250 ml hoặc 400 ml, thích hợp để phân tán các phần mẫu thử của phomat và whey phomat.
- 6.13 **Sàng thử nghiệm**, bằng lưới đan, đường kính 200 mm, cỡ lỗ danh định 500 μm và bình thu nhận phù hợp với yêu cầu của ISO 565.
- 6.14 **Máy khuấy từ**.
- 6.15 **Nồi cách thuỷ**, có thể đun sôi nước.
- 6.16 **Tủ sấy**, có thể duy trì nhiệt độ từ 110 °C đến 120 °C.

7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện và không bị thay đổi hoặc suy giảm chất lượng trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

Bảo quản mẫu thử nghiệm sao cho không làm suy giảm chất lượng cũng như không làm thay đổi thành phần của mẫu.

8 Chuẩn bị mẫu thử

8.1 Sữa bột và whey bột

Chuyển mẫu thử sang hộp đựng mẫu (6.2) có dung tích lớn khoảng gấp hai lần mẫu thử. Đậy nắp hộp. Trộn kỹ mẫu thử bằng cách lắc và đảo chiều hộp chứa nhiều lần cho đến khi thu được mẫu đồng nhất.

8.2 Casein và caseinat

8.2.1 Sau khi chuyển hết mẫu thử sang hộp đựng (6.2) có dung tích thích hợp, trộn kỹ mẫu thử bằng cách lắc và đảo chiều hộp đựng nhiều lần, nếu cần.

8.2.2 Chuyển 50 g mẫu thử sang sàng thử nghiệm (6.13). Nếu tất cả 50 g mẫu này lọt hết qua sàng, hoặc gần như lọt hết, thì cho toàn bộ mẫu thử đã trộn (8.2.1) qua sàng.

8.2.3 Nếu mẫu thử không lọt hết qua sàng, thì dùng dụng cụ nghiền (6.11) để nghiền mẫu. Chuyển ngay toàn bộ mẫu thử đã sàng vào hộp đựng mẫu (6.2) và đậy nắp hộp, trộn kỹ mẫu. Trong quá trình thực hiện thao tác này, chú ý không làm thay đổi hàm lượng nước của sản phẩm.

8.2.4 Sau khi chuẩn bị mẫu xong, tiến hành chuẩn bị ngay phần mẫu thử (9.4).

8.3 Phomat

8.3.1 Trước khi phân tích, loại bỏ phần cùi hoặc lớp mốc trên bề mặt ra khỏi mẫu thử sao cho phần mẫu thử đúng là đại diện cho phomat thường dùng.

8.3.2 Nghiền mẫu bằng dụng cụ thích hợp (6.11). Trộn nhanh phần mẫu đã nghiền và nghiền lần thứ hai, nếu có thể và trộn kỹ lại. Rửa sạch dụng cụ sau mỗi lần nghiền mẫu. Nếu phần mẫu thử không thể nghiền, thì trộn kỹ mẫu bằng cách khuấy và trộn mạnh.

TCVN 6268-1:2007

8.3.3 Ngay sau khi nghiền, chuyển phần mẫu thử vào hộp đựng kín khí (6.2) càng sớm càng tốt cho đến khi xác định, nhưng tốt nhất là tiến hành xác định ngay. Nếu không thể xác định ngay, thì chú ý để bảo toàn mẫu thử và tránh hơi ẩm tích tụ trên bề mặt phía trong hộp đựng.

8.3.4 Không kiểm tra phomat nghiền cho thấy đã bị mốc không mong muốn hoặc bắt đầu phân hủy.

8.4 Whey phomat

Chuẩn bị mẫu thử theo qui định trong 8.3.2.

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị cột cadimi mạ đồng

9.1.1 Cho một lượng hạt cadimi (5.2) khoảng từ 40 g đến 60 g cho mỗi cột vào bình nón 250 ml (6.3). Thêm một lượng dung dịch làm việc axit clohydric (5.7) vừa đủ ngập cadimi. Xoay bình trong vài phút.

9.1.2 Gạn dung dịch (9.1.1). Rửa cadimi trong bình nón bằng nước cho đến khi hết ion clorua (nghĩa là đến khi không còn phản ứng với bạc nitrat).

9.1.3 Mạ đồng cadimi bằng cách thêm dung dịch đồng (II) sulfat (5.4), cần đến khoảng 2,5 ml dung dịch cho 1 g cadimi. Xoay trong 1 min.

9.1.4 Gạn dung dịch (9.1.3) và rửa ngay cadimi đã mạ đồng bằng nước, chú ý là luôn để nước ngập cadimi. Kết thúc việc rửa khi nước rửa không còn chứa đồng kết tủa.

9.1.5 Nhồi nút bông thủy tinh vào đáy cột thủy tinh (6.9) để giữ cadimi đã mạ đồng (xem hình 1). Đổ đầy nước vào cột thủy tinh.

9.1.6 Chuyển cadimi đã mạ đồng sang cột thủy tinh thật nhanh, tránh tiếp xúc với không khí. Chiều cao của cadimi mạ đồng phải từ 15 cm đến 20 cm. Tránh để bọt khí bám vào giữa các hạt cadimi đã mạ đồng. Chú ý mức dung dịch không được thấp hơn bề mặt trên của cadimi đã mạ đồng.

9.1.7 Ổn định cột vừa chuẩn bị xong bằng cách cho hỗn hợp của 750 ml nước, 225 ml dung dịch làm việc kali nitrat (5.17), 20 ml dung dịch đệm (5.19) và 20 ml dung dịch EDTA (5.10) chảy qua với tốc độ không quá 6 ml/min. Rửa cột bằng 50 ml nước.

9.2 Kiểm tra khả năng khử của cột

9.2.1 Tiến hành kiểm tra khả năng khử của cột ít nhất là hai lần trong ngày, ở thời điểm bắt đầu và thời điểm kết thúc các dãy xác định.

9.2.2 Dùng pipet lấy 20 ml dung dịch làm việc kali nitrat (5.17) cho vào bình chứa trên đỉnh cột. Thêm ngay 5 ml dung dịch đệm (5.19) vào lượng chứa trong bình. Cho lượng chứa trong bình chảy với tốc độ không quá 6 ml/min. Hứng dịch rửa giải vào bình định mức 100 ml (6.4).

9.2.3 Khi bình chứa của cột khử gần cạn, rửa thành bình với khoảng 15 ml nước. Khi bình này đã cạn hết, rửa lại lần nữa bằng một lượng 15 ml nước khác. Khi nước rửa lần hai này đã chảy hết sang cột, thì đổ đầy nước vào bình. Cho lượng nước trong bình chảy hết qua cột với tốc độ nhanh nhất. Thu lấy khoảng 100 ml dịch rửa giải.

9.2.4 Tháo bình định mức 100 ml (9.2.3) ra. Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

9.2.5 Dùng pipet lấy 10 ml dịch rửa giải cho vào bình định mức dung tích 100 ml (6.4) khác. Pha loãng dịch rửa giải bằng nước đến khoảng 60 ml và trộn. Tiếp tục tiến hành theo qui định trong 9.7 đến 9.9.

9.2.6 Từ hàm lượng nitrit thu được trong 10.1 của dịch rửa giải (9.2.5) và hàm lượng tính được từ đường chuẩn (9.9.4), tính phần trăm khả năng khử của cột ($0,067 \mu\text{g NO}_2^-$ trên mililit tương ứng với 100 % khả năng khử). Nếu khả năng khử nhỏ hơn 95 % thì phục hồi lại cột theo 9.3.

9.3 Phục hồi cột

9.3.1 Phục hồi cột cuối mỗi ngày sử dụng, hoặc thường xuyên hơn nếu khi kiểm tra theo (9.2) cho thấy cột đã kém hiệu quả.

9.3.2 Thêm khoảng 5 ml dung dịch EDTA (5.10) và 2 ml dung dịch làm việc axit clohydric (5.7) vào 100 ml nước và trộn. Cho hỗn hợp chảy qua cột với tốc độ khoảng 10 ml/min.

9.3.3 Khi bình chứa trên đỉnh đã cạn hết, rửa sạch cột liên tiếp bằng nước, dung dịch axit clohydric (5.7) và rửa lại tiếp bằng nước.

9.3.4 Nếu hiệu quả của cột vẫn chưa đáp ứng được yêu cầu thì lập lại qui trình trong 9.1.7.

9.4 Chuẩn bị mẫu thử

9.4.1 Sữa bột

Cân khoảng 10 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.1) chính xác tới 1 mg. Chuyển hết phần mẫu thử này vào bình nón 500 ml (6.3). Thêm dần 136 ml nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ từ 50 °C đến 55 °C. Dùng đũa thủy tinh hoặc lắc bình để hoà tan phần mẫu thử.

9.4.2 Whey bột

Cân khoảng 5 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.1) chính xác tới 0,1 mg. Chuyển hết phần mẫu thử này vào bình nón 500 ml (6.3). Thêm dần 136 ml nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ từ 50 °C đến 55 °C. Dùng đũa thủy tinh hoặc lắc bình để hoà tan phần mẫu thử. Đậy nắp bình bằng giấy nhôm hoặc bằng

TCVN 6268-1:2007

mặt kính đồng hồ và đặt bình vào nồi cách thuỷ (6.15) có nước sôi trong 15 min. Lấy bình ra khỏi nồi cách thuỷ và để cho nhiệt độ đạt 50 °C đến 60 °C.

9.4.3 Casein

Cân khoảng 10 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.2) chính xác tới 1 mg. Chuyển hết phần mẫu thử này vào bình nón 500 ml (6.3). Thêm dần 136 ml nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ từ 50 °C đến 55 °C và 10 ml dung dịch đệm (5.19). Dùng máy khuấy từ (6.14) để khuấy tan phần mẫu thử.

9.4.4 Caseinat

Cân khoảng 2 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.2) chính xác tới 0,1 mg. Chuyển hết phần mẫu thử này vào bình nón 500 ml (6.3). Thêm dần 136 ml nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ từ 50 °C đến 55 °C và 10 ml dung dịch đệm (5.19). Dùng máy khuấy từ (6.14) để khuấy tan phần mẫu thử.

9.4.5 Phomat

Cân khoảng 10 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.3) chính xác tới 1 mg. Chuyển hết phần mẫu thử này vào bình thuỷ tinh của máy trộn hoặc thiết bị đồng hoá (6.12). Thêm dần 144 ml nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ từ 50 °C đến 55 °C. Trộn trong máy trộn hoặc thiết bị đồng hoá (6.12) để hoà tan hết phần mẫu thử.

9.4.6 Whey phomat

Cân khoảng 5 g mẫu thử đã chuẩn bị (8.3) chính xác tới 1 mg. Chuyển hết phần mẫu thử này vào bình thuỷ tinh của máy trộn hoặc thiết bị đồng hoá (6.12). Thêm dần 134 ml nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ từ 50 °C đến 55 °C. Trộn trong máy trộn hoặc thiết bị đồng hoá (6.12) để hoà tan hết phần mẫu thử.

9.5 Chiết và khử protein

9.5.1 Sữa bột, whey bột, casein và caseinat và whey phomat

9.5.1.1 Cho vào phần mẫu thử (9.4.1, 9.4.2, 9.4.3, 9.4.4 hoặc 9.4.6 tương ứng), theo thứ tự sau đây: 12 ml dung dịch kẽm sulfat (5.8), 12 ml kali hexaxyanoferrat (II) (5.9) và 40 ml dung dịch đệm (5.19), khuấy kỹ sau mỗi lần thêm, và khuấy trộn đều. Để thu được phần dịch lọc trong, để yên hỗn hợp trong bình nón ít nhất 15 min, nhưng không quá 1 h. Rối lọc qua giấy lọc (6.8), thu lấy phần dịch lọc vào bình nón 250 ml (6.3).

9.5.1.2 Trong khoảng thời gian qui định, phần dịch lọc thu được phải trong. Để làm được điều này, có thể cần phải sử dụng một thể tích lớn hơn của từng thuốc thử làm kết tủa (5.8 và 5.9) (ví dụ: nếu phần

tích phomat ủ chín). Giảm thể tích nước ấm tương ứng để duy trì được thể tích của phần dịch lọc khoảng 200 ml.

CHÚ THÍCH Tổng thể tích dịch lọc sẽ khoảng 200 ml. Thể tích này được dùng trong tính toán (10.1 và 10.2).

9.5.2 Phomat

Cho vào phần mẫu thử (9.4.5), theo thứ tự sau đây: 6 ml dung dịch kẽm sulfat (5.8), 6 ml dung dịch kali hexaxyanoferrat (II) (5.9) và 40 ml dung dịch đệm (5.19), khuấy kỹ sau mỗi lần thêm và khuấy trộn đều. Để thu được phần dịch lọc trong, để yên hỗn hợp trong bình nón ít nhất 15 min, nhưng không quá 1 h. Rồi lọc qua giấy lọc (6.8), thu lấy phần dịch lọc vào bình nón 250 ml (6.3) (xem 9.5.1.2 và chú thích).

9.6 Khử nitrat về nitrit

9.6.1 Dùng pipet lấy 20 ml dịch lọc (9.5.1 hoặc 9.5.2) cho vào bình chứa trên đỉnh cột khử (9.1) đã chuẩn bị. Thêm 5 ml dung dịch đệm (5.19) vào bình này, trộn đều bằng cách dùng đũa thủy tinh để khuấy. Cho lượng chứa trong bình này đi qua cột với tốc độ không quá 6 ml/min. Thu lấy dịch rửa giải này vào bình định mức dung tích 100 ml (6.4).

9.6.2 Khi bình chứa của cột khử đã cạn hết, rửa thành bình với khoảng 15 ml nước. Sau khi nước chảy hết, rửa lại lần nữa bằng 15 ml nước khác. Sau khi phần nước lần thứ hai này chảy hết sang cột, đổ đầy nước vào bình. Cho lượng trong bình chảy qua cột với tốc độ lớn nhất. Thu lấy khoảng 100 ml dịch rửa giải vào bình định mức 100 ml (6.4).

9.6.3 Lấy bình định mức 100 ml ra. Thêm nước đến vạch và trộn.

9.7 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng song song với phép xác định, nhưng thay phần mẫu thử trong 9.8.1 bằng một thể tích nước tương đương.

9.8 Xác định

9.8.1 Dùng pipet lấy các thể tích bằng sau (ví dụ: 25 ml) của dịch lọc thu được trong 9.5.1 hoặc 9.5.2 và dịch rửa giải (9.6.3) cho vào các bình định mức 100 ml riêng rẽ (6.4). Thêm nước vào mỗi bình để thu được thể tích khoảng 60 ml và trộn.

9.8.2 Cho 6 ml dung dịch I (5.11) và 5 ml dung dịch II (5.12) vào bình cầu (9.8.1). Lắc cẩn thận và để yên dung dịch trong 5 min ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp của mặt trời.

TCVN 6268-1:2007

9.8.3 Cho 2 ml dung dịch III (5.13) vào bình cầu (9.8.2). Lắc cẩn thận và để yên 5 min ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp của mặt trời. Thêm nước đến vạch 100 ml và trộn.

9.8.4 Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được trong 9.8.3 trong vòng 15 min so với độ hấp thụ của dung dịch của các thuốc thử trắng (9.5) sử dụng máy đo phổ (6.10) đo ở bước sóng 538 nm.

9.9 Dụng đường chuẩn

9.9.1 Dùng pipet lấy 0 ml (mẫu trắng), 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml, 12 ml và 20 ml dung dịch làm việc natri nitrit (5.15) cho vào các bình định mức 100 ml (6.4) riêng rẽ. Thêm nước vào mỗi bình đến thể tích khoảng 60 ml.

9.9.2 Tiến hành theo qui định trong 9.8.2 và 9.8.3.

9.9.3 Đo độ hấp thụ của dung dịch làm việc natri nitrit trong vòng 15 min so với độ hấp thụ của dung dịch của các thuốc thử trắng (9.5), sử dụng máy đo phổ (6.10) đo ở bước sóng 538 nm.

9.9.4 Vẽ đồ thị các độ hấp thụ thu được trong 9.9.3 tương ứng với các nồng độ của nitrit, tính bằng microgam trên mililit, tính được từ các lượng dung dịch chuẩn natri nitrit đã thêm vào (9.9.1).

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Hàm lượng nitrit

10.1.1 Tính hàm lượng nitrit

Hàm lượng nitrit của mẫu thử, ω_{N_1} , tính theo công thức sau đây:

$$\omega_{N_1} = \frac{20000c_1}{mV}$$

trong đó

ω_{N_1} là hàm lượng nitrit trong mẫu, tính bằng miligam ion nitrit trên kilogam;

c_1 là nồng độ đọc được từ đường chuẩn, tương ứng với độ hấp thụ đo được của dung dịch mẫu thử (9.8.4), tính bằng microgam ion nitrit trên mililit;

m là khối lượng của phần mẫu thử (9.4), tính bằng gam;

V là thể tích phần mẫu thử được lấy từ dịch lọc (9.8.1), tính bằng mililit.

10.1.2 Biểu thị kết quả

Ghi kết quả chính xác đến một chữ số sau dấu phẩy.

10.2 Hàm lượng nitrat

10.2.1 Tính hàm lượng nitrat

Hàm lượng nitrat của mẫu thử, ω_{N_2} , tính theo công thức sau đây:

$$\omega_{N_2} = 1,35 \left[\left(\frac{100000c_2}{mV} \right) - \omega_{N_1} \right]$$

trong đó

ω_{N_2} là hàm lượng nitrat trong mẫu, tính bằng miligam ion nitrat trên kilogram;

c_2 là nồng độ đọc được từ đường chuẩn, tương ứng với độ hấp thụ đo được của dung dịch mẫu thử (9.9.4), tính bằng microgam ion nitrit trên mililit;

m là khối lượng của phần mẫu thử (9.4), tính bằng gam;

V là thể tích phần mẫu thử được lấy từ dịch lọc (9.8.1), tính bằng mililit.

10.2.2 Tính hàm lượng nitrat, có xem xét đến khả năng khử của cột

Nếu khả năng khử của cột được tính, thì tính hàm lượng nitrat của mẫu, ω_{N_2} , theo công thức sau đây:

$$\omega_{N_2} = 1,35 \left[\left(\frac{100000c_2}{mV} \times \frac{100}{r} \right) - \omega_{N_1} \right]$$

trong đó r là khả năng khử của cột ở cuối mỗi dãy xác định.

10.1.3 Biểu thị kết quả

Biểu thị các kết quả đến các số nguyên.

11 Độ chụm

11.1 Khái quát

Các giá trị giới hạn độ lặp lại và độ tái lập được biểu thị đối với mức xác suất 95 % và có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và chất nền khác với các dải nồng độ và chất nền đã nêu.

TCVN 6268-1:2007

CHÚ THÍCH Các giá trị độ lặp lại và độ tái lập đã được chấp nhận từ các tiêu chuẩn quốc tế trước đây về xác định nitrat và nitrit trong các sản phẩm sữa: ISO 4099, ISO 6739, ISO 6740 và ISO 8195. Các tiêu chuẩn này đến nay đã được huỷ bỏ và thay thế bằng tiêu chuẩn ISO 14673 này.

11.2 Độ lặp lại

11.2.1 Nitrit

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm độc lập riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do cùng một người tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, dùng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn 1 mg/kg sản phẩm.

11.2.2 Nitrat

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm độc lập riêng rẽ, khi sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do cùng một người tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, dùng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn:

- đối với sữa bột, whey bột, casein, caseinat và phomat có hàm lượng nitrat < 30 mg/kg: 3 mg/kg;
- đối với sữa bột, whey bột, casein, caseinat và phomat có hàm lượng nitrat \geq 30 mg/kg: 10 % trung bình các kết quả;
- đối với whey phomat có hàm lượng nitrat < 30 mg/kg: 5 mg/kg;
- đối với whey phomat có hàm lượng nitrat \geq 30 mg/kg: 15 % trung bình các kết quả.

11.2.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả của hai lần thử nghiệm riêng rẽ thu được sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do các người khác nhau phân tích trong các phòng thử nghiệm khác nhau, dùng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá:

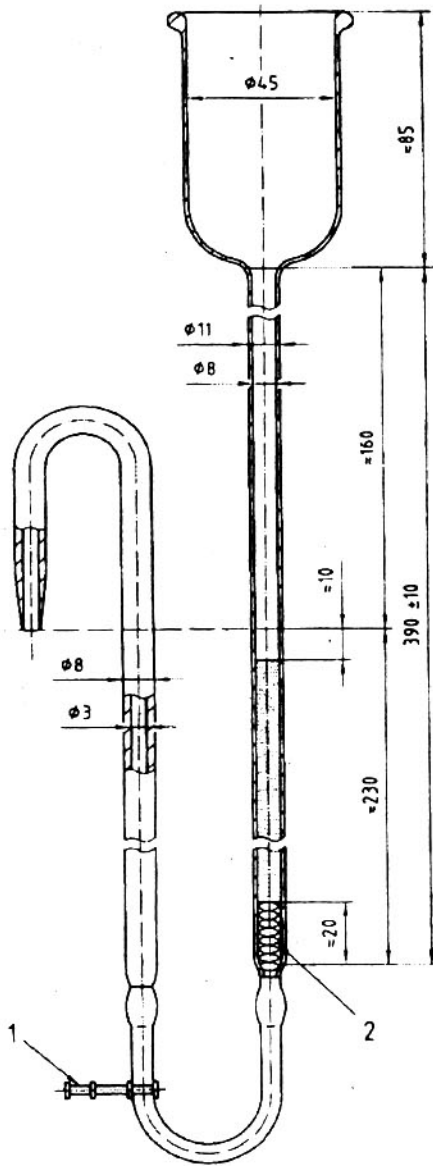
- đối với sữa bột có hàm lượng nitrat < 30 mg/kg: 8 mg/kg;
- đối với sữa bột có hàm lượng nitrat \geq 30 mg/kg: 25 % trung bình của các kết quả;
- đối với whey bột có hàm lượng nitrat < 30 mg/kg: 5 mg/kg;
- đối với whey bột có hàm lượng nitrat \geq 30 mg/kg: 15 % trung bình của các kết quả;
- đối với casein và caseinat: 25 % trung bình các kết quả;

- đối với phomat có hàm lượng nitrat < 30 mg/kg: 6 mg/kg;
- đối với phomat có hàm lượng nitrat \geq 30 mg/kg: 25 % trung bình các kết quả;
- đối với whey phomat có hàm lượng nitrat < 30 mg/kg: 10 mg/kg;
- đối với whey phomat có hàm lượng nitrat \geq 30 mg/kg: 15 % trung bình các kết quả;

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các điều kiện thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy ý, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.
- kết quả thử nghiệm thu được hoặc nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại thì ghi kết quả cuối cùng thu được.



Chú giải

- 1 kẹp vít
- 2 nút bông thủy tinh

Hình 1 – Dụng cụ khử nitrat

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.