

TCVN 6839 : 2001

ISO 8151: 1987

**SỮA BỘT – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRAT –
PHƯƠNG PHÁP KHỬ CADIMI VÀ ĐO PHỔ
(PHƯƠNG PHÁP SÀNG LỌC)**

*Dried milk – Determination of nitrate content – Method by
cadmium reduction and spectrometry (Screening method)*

Lời nói đầu

TCVN 6839 : 2001 hoàn toàn tương đương với ISO 8151 : 1987;

TCVN 6839 : 2001 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, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Sữa bột – Xác định hàm lượng nitrat – Phương pháp khử bằng cadimi và đo phổ (phương pháp sàng lọc)

Dried milk – Determination of nitrate content – Method by cadmium reduction and spectrometry (Screening method)

1 Phạm vi và lĩnh vực áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp sàng lọc để xác định hàm lượng nitrat trong sữa bột bằng cách khử bằng cadimi và đo phổ.

2 Tiêu chuẩn viện dẫn

TCVN 6400 : 1998 (ISO 707) Sữa và sản phẩm sữa – Lấy mẫu.

3 Định nghĩa

Hàm lượng nitrat trong sữa bột : Hàm lượng của các chất xác định được bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này và được biểu thị theo miligam ion nitrat (NO_3^-) trên kilogam.

Chú thích – Bất kỳ nitrit nào có mặt trong sữa bột cũng sẽ được xác định theo nitrat.

4 Nguyên tắc

Hoà tan sữa bột trong nước, làm kết tủa chất béo và protein rồi lọc.

Dùng bột kẽm và ion cadimi để khử nitrat trong phần dịch lọc về nitrit.

Cho sunfanilamid và N-1-naphtyl etylendiamin dihydro clorua vào phần chất lỏng nổi phía trên để hiện màu đỏ và đo phổ ở bước sóng 538 nm.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích. Chỉ sử dụng nước cất hoặc nước đã loại ion không chứa nitrat và nitrit.

TCVN 6839 : 2001

5.1 Dung dịch để làm kết tủa protein và chất béo.

5.1.1 Dung dịch kẽm sunfat

Hoà tan trong nước 267,5 g kẽm sunfat ngậm 7 nước ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) và pha loãng đến 500 ml.

5.1.2 Dung dịch kali hexaxyanoferat (II).

Hoà tan trong nước 86 g kali hexaxyanoferat (II) ngậm 3 nước ($K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) và pha loãng đến 500 ml.

5.2 Dung dịch cadimi axetat

Hoà tan trong nước 0,5 g cadimi axetat ngậm 2 nước ($[(CH_3COO)_2Cd \cdot 2H_2O]$), thêm 1 ml axit axetic (CH_3COOH) và pha loãng đến 100 ml.

5.3 Kẽm, dung dịch huyền phù.

Ngay trước khi dùng, cho 10 ml nước và 2 g bột kẽm vào một cốc nhỏ có mỏ. Dùng máy khuấy từ để duy trì kẽm ở dạng huyền phù.

5.4 Dung dịch hiện màu

5.4.1 Dung dịch I

Dùng nước để pha loãng 450 ml axit clohidric đậm đặc ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml) đến 1 000 ml.

5.4.2 Dung dịch II

Hoà tan trong hỗn hợp của 75 ml nước và 5 ml axit clohidric đậm đặc ($\rho_{20} = 1,19$ g/ml) 0,5 g sunfanilamit ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$) bằng cách đun nóng trên nồi cách thuỷ. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng bằng nước đến 100 ml. Lọc, nếu cần.

5.4.3 Dung dịch III

Hoà tan trong nước 0,1 g *N*-1-naphtyl etylendiamin dihydro clorua ($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$). Pha loãng bằng nước đến 100 ml. Lọc, nếu cần.

Dung dịch này có thể bảo quản được đến 1 tuần trong chai màu nâu đậy kín để trong tủ lạnh.

5.5 Kali nitrat, dung dịch tiêu chuẩn tương ứng với 0,03 g NO_3^- trên lít.

5.5.1 Dung dịch gốc

Sấy khô vài gam kali nitrat (KNO_3) ở 110 °C đến 120 °C đến khối lượng không đổi, nghĩa là đến khi chênh lệch giữa hai lần cân liên tiếp không vượt quá 1 mg. Hoà tan trong nước 489,2 mg kali nitrat đựng trong bình định mức một vạch 1 000 ml. Pha loãng bằng nước đến vạch và lắc.

5.5.2 Chuẩn bị dung dịch tiêu chuẩn

Dùng pipet chuyển 10 ml dung dịch gốc (5.5.1) vào bình định mức một vạch 100 ml. Pha loãng bằng nước đến vạch và lắc.

Chuẩn bị dung dịch tiêu chuẩn này trong ngày sử dụng.

1 ml dung dịch tiêu chuẩn này chứa 30,0 μg NO_3^- .

5.6 Dung dịch đệm, pH từ 9,6 đến 9,7.

Cho 17 ml axit sunfuric đậm đặc [$\rho_{20} = 1,84$ g/ml; dung dịch khoảng 98%(m/m) H_2SO_4] vào khoảng 600 ml nước đựng trong bình định mức một vạch 1 000 ml. Làm mát đến nhiệt độ phòng và lắc. Cho thêm 100 ml dung dịch amoniac đậm đặc [$\rho_{20} = 0,91$ g/ml; dung dịch khoảng 25% (m/m) NH_3]. Pha loãng bằng nước đến vạch và lắc.

Chỉnh pH đến 9,6 – 9,7, nếu cần.

5.7 Silicon chống tạo bọt¹⁾.

6 Thiết bị, dụng cụ

CHÚ Ý VỀ VIỆC CHUẨN BỊ CÁC DỤNG CỤ THỦY TINH.

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

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ phòng thí nghiệm thông thường và đặc biệt như sau :

6.1 Phổ kế, thích hợp để đo độ hấp thụ ở bước sóng 538 nm, có các cuvet đo với chiều dài đường quang từ 1 cm đến 4 cm.

6.2 Máy ly tâm, có thể tạo gia tốc quay tương đối ít nhất là 200 g.

6.3 Ống ly tâm, được đậy bằng nút thủy tinh mờ, dung tích tối thiểu 25 ml, để dùng với máy ly tâm (6.2).

¹⁾ Fluka 85390 là loại sản phẩm thích hợp bán sẵn. Thông tin này do người sử dụng tiêu chuẩn cung cấp và tổ chức ISO không phải xác nhận.

TCVN 6839 : 2001

6.4 Máy khuấy từ.

6.5 Giấy lọc, loại trung bình, đường kính khoảng 15 cm, không chứa nitrat và nitrit.

6.6 Bình nón, dung tích 500 ml.

6.7 Bình định mức một vạch, dung tích 100 ml và 1 000 ml, phù hợp với các yêu cầu của loại B của ISO 1042.

6.8 Pipet, xả hết 5 ml; 10 ml; 15 ml và 20 ml, phù hợp với yêu cầu của loại A của ISO 648 hoặc ISO 835-1.

7 Lấy mẫu

Xem TCVN 6400 : 1998 (ISO 707).

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

Cho sữa bột vào hộp đựng có dung tích lớn khoảng gấp đôi lượng mẫu, có nắp đậy kín khí. Đậy ngay nắp hộp. Trộn kỹ lượng sữa bột trong hộp đựng bằng cách lắc và đảo chiều hộp đựng.

8.2 Phần mẫu thử

Cân khoảng 10 g mẫu thử, chính xác đến 0,01 g và cho vào bình nón 500 ml (6.6).

8.3 Thử mẫu trắng

Tiến hành thử mẫu trắng song song với các thao tác qui định trong 8.5 đến hết 8.7.3, theo cùng một qui trình, sử dụng các lượng thuốc thử như nhau, nhưng bỏ qua phần mẫu thử.

8.4 Đồ thị hiệu chuẩn

8.4.1 Cho vào năm bình nón 500 ml (6.6) mỗi bình 10 g sữa bột gầy, không chứa nitrat và nitrit. Cho vào mỗi bình tương ứng 136 ml, 131 ml, 126 ml, 121 ml và 116 ml nước ấm (50°C đến 55°C) và dùng đũa thủy tinh khuấy hoặc lắc bình để hoà tan sữa bột gầy. Cho thêm vào mỗi bình 0,1 ml silicon chống tạo bọt (5.7).

Dùng pipet lấy 0 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml và 20 ml dung dịch tiêu chuẩn kali nitrat (5.5) cho vào năm bình nón tương ứng.

8.4.2 Trong mỗi trường hợp, tiến hành theo qui định trong 8.5.2 đến hết 8.7.3. Đo độ hấp thụ các các dịch lọc đã xử lý từ các bình đã bổ sung các dung dịch tiêu chuẩn dựa trên độ hấp thụ của bình zero (dịch lọc đã xử lý từ bình không bổ sung dung dịch tiêu chuẩn).

8.4.3 Dụng đồ thị của các độ hấp thụ đo được theo khối lượng của nitrat đã bổ sung vào, tính bằng microgam (0 µg; 150 µg; 300 µg; 450 µg và 600 µg tương ứng).

8.5 Chiết và khử protein

8.5.1 Cho từ từ 136 ml nước ấm (50°C đến 55 °C) vào phần mẫu thử và dùng đũa thủy tinh khuấy hoặc lắc bình để hoà tan sữa bột. Cho thêm 0,1 ml silicon chống tạo bọt (5.7).

8.5.2 Thêm theo thứ tự : 12 ml dung dịch kẽm sunfat (5.1.1), 12 ml dung dịch kali hexaxyanoferat (II)

(5.1.2), xoay bình sau mỗi lần thêm. Thêm 40 ml dung dịch đệm (5.6) và xoay bình. Lọc qua giấy lọc gấp nếp (6.5).

Chú thích – Dịch lọc phải trong và do đó có thể cần phải để dung dịch một lúc để thoả mãn yêu cầu này.

8.6 Khử nitrat về nitrit

8.6.1 Dùng pipet lấy 20 ml dịch lọc (8.5.2) cho vào ống ly tâm (6.3). Thêm 0,5 ml dung dịch cadimi axetat (5.2). Trộn.

8.6.2 Thêm khoảng 0,5 ml dung dịch huyền phù kẽm (5.3). Sau khi thêm, xoay ngay ống và cứ 5 min lại lộn ngược ống, nhưng tránh để lẫn không khí vào. Nếu cần, ly tâm ống trong 5 min ở gia tốc tương đối ít nhất là 200g.

8.7 Tiến hành xác định

8.7.1 Dùng xylanh hoặc pipet (6.8) chuyển cẩn thận 10 ml chất lỏng phía trên (8.6.2) vào bình định mức 100 ml (6.7).

8.7.2 Thêm 5 ml dung dịch I (5.4.1) và thêm tiếp 5 ml dung dịch II (5.4.2). Trộn cẩn thận và để yên dung dịch 5 min ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng mặt trời chiếu thẳng.

8.7.3 Thêm 2 ml dung dịch III (5.4.3). Trộn cẩn thận và để yên dung dịch 5 min ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng mặt trời chiếu thẳng. Thêm nước đến vạch và trộn đều.

8.7.4 Đo độ hấp thụ của dung dịch dựa vào dung dịch thử mẫu trắng (8.3) ở trong vòng 15 min ở bước sóng 538 nm.

Nếu độ hấp thụ thu được lớn hơn 1,5, thì lặp lại phép xác định sau khi pha loãng dịch lọc thu được trong 8.5.

9 Biểu thị kết quả

9.1 Phương pháp tính và công thức

Hàm lượng nitrat của mẫu được biểu thị bằng miligam ion nitrat (NO_3^-) trên kilogam :

$$\frac{m_1}{m_0}$$

trong đó

m_0 là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam;

m_1 là khối lượng của nitrat tương ứng với độ hấp thụ đo được trong 8.7.4, đọc từ đồ thị hiệu chuẩn (8.4), tính bằng microgam;

Báo cáo kết quả chính xác đến 1 mg/kg.

9.2 Độ lặp lại

Chênh lệch giữa hai kết quả thu được trong một khoảng thời gian ngắn do cùng một người phân tích không vượt quá 6 mg/kg nếu hàm lượng nitrat nhỏ hơn 30 mg/kg, và không vượt quá 20% trung bình cộng của các kết quả nếu hàm lượng nitrat lớn hơn hoặc bằng 30 mg/kg.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ ra phương pháp đã sử dụng và kết quả thu được. Cũng phải đề cập đến tất cả các chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả.

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