

TCVN

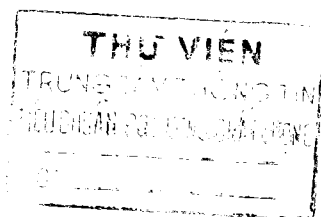
TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 6268 : 1997

ISO 6736 : 1982 (F)

**SỮA BỘT – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRAT
VÀ NITRIT – PHƯƠNG PHÁP KHỬ BẰNG CADIMI
VÀ ĐO QUANG PHỔ**

*Dried milk – Determination of nitrate and nitrite content –
Method by cadmium reduction and photometry*



HÀ NỘI – 1997

Lời nói đầu

TCVN 6268 : 1997 hoàn toàn tương đương với ISO 6736 : 1982 (E)

TCVN 6268 : 1997 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 và nitrit Phương pháp khử bằng cadimi và đo quang phổ

*Code milk - Determination of nitrate and nitrite content -
 Method by cadmium reduction and photometry*

1 Phạm vi và lĩnh vực áp dụng

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

Phương pháp này thích hợp đối với sữa bột nguyên chất, sữa bột tách kem từng phần và sữa bột gầy.

Chú thích - Các phương pháp xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong bột của dịch sữa và dịch tách ra khi sản xuất phomat được qui định trong ISO 6739 và ISO 6740.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

ISO 707 Sữa và các sản phẩm của sữa - Các phương pháp lấy mẫu.

3 Định nghĩa

Hàm lượng nitrat và nitrit trong sữa bột : Là hàm lượng của các chất được xác định bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này và biểu thị tương ứng theo miligam ion nitrat (NO_3^-) và ion nitrit (NO_2^-) trên kilôgam (phần triệu).

4 Nguyên tắc

Hoà tan sữa bột trong nước để tách chất béo và protein, và sau đó lọc.

Khử nitrat trong phần dịch lọc thành nitrit bằng cadimi mạ đồng.

TCVN 6268:1997

Để tạo màu đỏ trong cả hai phần dịch lọc chưa khử và dung dịch khử nitrat, bằng cách thêm sulfanilamid và N -1 naphthyl -etylendiamin dihydroclorua, và đo quang ở bước sóng 538 nm.

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

5 Thuốc thử

Sử dụng tất cả các thuốc thử thuộc loại phân tích. Dùng nước cất hoặc nước khử ion không chứa nitrat và nitrit.

Chú thích – Để tránh khả năng bị tạo các bọt khí của cột cadimi mạ đồng (6.10), nước cất hoặc nước đã khử ion sử dụng để chuẩn bị cột (8.1), để kiểm tra khả năng khử của cột (8.2), và để phục hồi cột (8.3) phải là nước mới đun sôi và làm nguội đến nhiệt độ phòng.

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

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

Đặt một số que kẽm thích hợp vào cốc có mỏ và phủ lên trên một lớp 40 g/l dung dịch cadimi sunfat ngậm 8 phân tử nước ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$). Thỉnh thoảng cạo bột xốp cadimi từ các que kẽm trong khoảng thời gian trên 24 giờ. Lấy que kẽm ra và gạt lấy chất lỏng cho đến khi chỉ còn một lớp ngậm cadimi. Rửa bột xốp hai hoặc ba lần bằng nước cất. Chuyển cadimi sang máy lắc thí nghiệm cùng với 400 ml dung dịch axit clohidric 0,1 mol/l và lắc vài giây để thu được các hạt có kích cỡ theo yêu cầu. Lấy lượng chứa trong máy lắc 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 theo qui định trong 8.1.1 đến 8.1.5.

5.2 Dung dịch đồng (II) sunfat

Hoà tan 20g đồng (II) sunfat ngậm 5 phân tử nước ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) trong nước và pha loãng tới 1 000 ml.

5.3 Dung dịch đệm, pH từ 9,6 đến 9,7

Pha loãng 50 ml axit clohidric đậm đặc (dung dịch ρ_{20} 1,19 g/ml, khoảng 38% (m/m)) với 600 ml nước. Sau khi lắc, thêm 135 ml dung dịch amon hidroxit (dung dịch ρ_{20} 0,91 g/ml, khoảng 25% (m/m)). Pha loãng bằng nước tới 1 000 ml và lắc.

Chú thích – Nếu dung dịch amon hidroxit không có sẵn ở nồng độ đó có thể sử dụng một lượng tương đương dung dịch đậm đặc hơn, thí dụ : 100 ml dung dịch 35% (m/m) (ρ_{20} 0,88 g/ml).

Nếu cần, điều chỉnh pH tới 9,6 đến 9,7.

5.4 Axit clohidric, dung dịch khoảng 2 mol/l.

Pha loãng 160 ml axit clohidric đậm đặc (ρ_{20} 1,19 g/ml) bằng nước tới 1 000 ml.

5.5 Axit clohidric, dung dịch khoảng 0,1 mol/l.

Pha loãng 50 ml dung dịch axit clohidric (5.4) bằng nước tới 1 000 ml.

5.6 Dung dịch để làm kết tủa protein và chất béo

5.6.1 Dung dịch kẽm sunfat

Hoà tan trong nước 53,5 g kẽm sunfat ngậm 7 phân tử nước ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) và pha loãng tới 100 ml.

5.6.2 Dung dịch kali hecxaxianofetat (II)

Hoà tan trong nước 17,2 g kali hecxaxianofetat (II) ngậm 3 phân tử nước [$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$] và pha loãng tới 100 ml.

5.7 Dung dịch EDTA

Hoà tan trong nước 33,5g dinatri etylendiamintetraaxetat ngậm 2 phân tử nước ($\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) và pha loãng tới 1 000 ml.

5.8 Dung dịch hiện màu

5.8.1 Dung dịch I

Hoà tan bằng cách đun nóng trong nồi cách thuỷ 0,5 g sunphanilamid ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$) trong hỗn hợp của 75 ml nước và 5 ml axit clohidric đậm đặc (ρ_{20} 1,19 g/ml). Làm nguội tới nhiệt độ phòng và pha loãng bằng nước tới 100 ml. Lọc nếu cần.

5.8.2 Dung dịch II

Pha loãng 450 ml axit clohidric đậm đặc (ρ_{20} 1,19 g/ml) bằng nước tới 1 000 ml.

5.8.3 Dung dịch III

Hoà tan trong nước 0,1 g N-1-naphtyl-etylendiamin dihydro clorua ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$). Pha loãng bằng nước tới 100 ml. Lọc nếu cần.

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

5.9 Natri nitrit, dung dịch chuẩn, tương ứng với 0,001 g nitrit trong lít.

Trong ngày sử dụng, hoà tan 0,150 g natri nitrit (NaNO_2) đã được sấy khô tới khối lượng không đổi từ 110°C đến 120°C trong nước, pha loãng bằng nước tới 1 000 ml trong bình định mức một vạch và lắc đều.

Pha loãng 10 ml dung dịch này với 20 ml dung dịch đệm (5.4) và pha loãng tiếp bằng nước tới 1 000 ml trong bình định mức một vạch. Lắc đều.

1 ml dung dịch chuẩn này chứa $1,00 \mu\text{g NO}_2^-$.

5.10 Kali nitrat, dung dịch chuẩn tương ứng với 0,0045 g ion nitrat trong 1 lít.

Hoà tan trong nước 1,468 g kali nitrat (KNO_3) đã được sấy khô tới khối lượng không đổi ở 120°C đến 120°C , pha loãng bằng nước tới 1 000 ml trong bình định mức một vạch và lắc đều.

Trong ngày sử dụng, pha loãng 5 ml dung dịch này với 20 ml dung dịch đệm (5.3) và pha loãng tiếp bằng nước tới 1 000 ml trong bình định mức một vạch và lắc đều.

1 ml dung dịch chuẩn này chứa $4,50 \mu\text{g NO}_3^-$.

6 Thiết bị

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

Sử dụng các thiết bị phòng thí nghiệm thông thường và đặc biệt là:

6.1 Cân phân tích

6.2 Bình đựng mẫu có nắp đậy kín.

6.3 Bình nón có dung tích 250 ml.

6.4 Bình nón có dung tích 500 ml.

6.5 Bình định mức có dung tích từ 100 ml đến 500 ml và 1 000 ml, phù hợp với yêu cầu của ISO 1042, loại B.

6.6 Pipet, loại 2-4-5-6-8-10-12-20-25 ml và 50 ml phù hợp với yêu cầu của ISO 648, loại A, hoặc ISO 835.

Chú thích – Có thể dùng buret thay cho pipet.

- 6.7 Ống đong chia độ, có dung tích 5 - 10 - 25 - 100 - 250 - 500 ml và 1 000 ml.
- 6.8 Phễu thuỷ tinh, có đường kính khoảng 7 cm, có đuôi ngắn.
- 6.9 Giấy lọc, loại trung có đường kính khoảng 15 cm, không chứa nitrat và nitrit.
- 6.10 Cột khử (thí dụ : theo hình 1).
- 6.11 Máy so màu quang điện hoặc máy đo quang phổ, thích hợp để đo ở bước sóng 538 nm với cuvet dày từ 1 cm đến 2 cm.

7 Lấy mẫu

Xem ISO 707.

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị cột cadimi mạ đồng

- 8.1.1 Cho các hạt cadimi (5.1) (khoảng từ 40 g đến 60 g cho mỗi cột) vào bình nón (6.3).
- 8.1.2 Thêm một lượng dung dịch axit clohidric (5.4) vừa đủ ngập cadimi. Xoay bình trong ít phút.
- 8.1.3 Gạn dung dịch và rửa cadimi trong bình bằng nước cho đến khi hết clorua.
- 8.1.4 Đồng hoá các hạt cadimi bằng cách thêm dung dịch đồng (II) sunfat (5.2) (khoảng 2,5 ml cho 1g cadimi) và xoay trong 1 phút.
- 8.1.5 Gạn dung dịch và rửa ngay cadimi bằng nước, chú ý là luôn để nước ngập cadimi. Kết thúc việc rửa khi nước rửa không còn chứa đồng kết tủa.
- 8.1.6 Lắp nút bông thuỷ tinh vào dưới đáy cột thuỷ tinh chứa cadimi đã mạ đồng (xem hình 1). Đổ đầy nước vào cột thuỷ tinh.
- 8.1.7 Chuyển cadimi đã mạ đồng sang cột thuỷ tinh thật nhanh tránh tiếp xúc với không khí. Chiều cao của cadimi mạ đồng phải từ 15 cm đến 20 cm.

Chú thích

- 1) Tránh để bọt khí bám vào giữa các hạt cadimi đã mạ đồng.
 - 2) Chú ý không để cho mức nước thấp hơn bề mặt trên của cadimi đã mạ đồng.
- 8.1.8 Kiểm tra cột mới chuẩn bị xong bằng cách cho hỗn hợp của 750 ml nước, 225 ml dung dịch chuẩn kali nitrat (5.10), 20 ml dung dịch đệm (5.3) và 20 ml dung dịch EDTA (5.7) chảy qua, với tốc độ chảy không được vượt quá 6 ml/phút, sau đó rửa cột bằng 50 ml nước.

8.2 Kiểm tra khả năng khử của cột

Tiến hành kiểm tra ít nhất là hai lần trong ngày, ở thời điểm bắt đầu và thời điểm cuối của dãy xác định.

8.2.1 Dùng pipet lấy 20 ml dung dịch kali nitrat chuẩn (5.10) cho vào bình chứa trên đỉnh cột. Thêm ngay 5 ml dung dịch đệm (5.3) vào bình chứa này. Hứng chất thoát ra vào bình định mức dung tích 100 ml. Tốc độ chảy không được vượt quá 6 ml/phút.

8.2.2 Khi bình chứa gần cạn, rửa thành bình với khoảng 15 ml nước và sau đó khi bình này đã cạn hết, rửa lại lần nữa bằng 15 ml nước khác. Sau khi nước rửa lần hai này đã chảy hết sang cột, đổ đầy nước vào bình và cho chảy qua cột với tốc độ nhanh nhất.

8.2.3 Sau khi thu được khoảng 100 ml nước thoát ra, tháo bình định mức ra, thêm nước cho tới vạch và lắc đều.

8.2.4 Dùng pipet lấy 10 ml nước thoát ra này cho vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm nước cho tới khoảng 60 ml. Tiếp tục tiến hành theo qui định trong 8.8.2, 8.8.3 và 8.8.4.

8.2.5 Từ hàm lượng nitrit (microgam ion nitrit trên mililit) của nước thoát ra đã pha loãng (8.2.4), được xác định từ đường chuẩn (8.10), 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 cột phải được phục hồi lại.

8.3 Phục hồi cột

Phục hồi lại cột như sau, nếu khi kiểm tra (8.2) cho thấy bị kém hiệu quả sau mỗi ngày sử dụng, hoặc khi kiểm tra thường xuyên.

8.3.1 Thêm khoảng 5 ml dung dịch EDTA (5.7) và 2 ml dung dịch axit clohidric (5.5) vào 100 ml nước. Cho hỗn hợp chảy qua cột với tốc độ khoảng 10 ml / phút.

8.3.2 Khi bình chứa trên đỉnh đã cạn hết, rửa sạch cột bằng nước, dung dịch axit clohidric (5.5) và nước.

8.3.3 Nếu cột vẫn còn chưa đáp ứng khả năng thì lặp lại qui trình qui định trong 8.1.8.

8.4 Chuẩn bị mẫu thử

Cho sữa bột vào hộp chứa có nắp đậy kín và có dung tích lớn gấp đôi thể tích sữa. Đóng ngay nắp hộp. Lắc kỹ hỗn hợp bằng cách lắc và đảo chiều hộp liên tục.

8.5 Phần mẫu thử

Cân 10 g mẫu thử chính xác tới 0,001 g và cho vào bình nón (6.4).

8.6 Chiết và tách protein

8.6.1 Thêm chính xác 112 ml nước ấm (từ 50°C đến 55°C) vào phần mẫu thử và dùng đũa thủy tinh để khuấy hoặc lắc bình để tan hết.

8.6.2 Thêm theo thứ tự sau: 24 ml dung dịch kẽm sunfat (5.6.1), 24 ml dung dịch kali hexaxyanoferrat (II) (5.6.2) và 40 ml dung dịch đệm (5.3), xoay kỹ bình sau mỗi lần thêm.

8.6.3 Để yên ít nhất là 15 phút nhưng không quá 1 giờ. Sau đó lọc qua giấy lọc (6.9), thu dịch lọc vào bình nón dung tích 250 ml.

Chú thích – Điều cơ bản là nước lọc phải trong và do đó cần phải để yên dung dịch quá 15 phút để thoả mãn yêu cầu này.

8.7 Khử nitrat thành nitrit

8.7.1 Dùng pipet lấy 20 ml dịch lọc (8.6.3) cho vào bình chứa trên đỉnh cột khử. Thêm 5 ml dung dịch đệm (5.3) vào bình này và dùng đũa thuỷ tinh để khuấy lắc. Thu nước thoát ra vào bình định mức dung tích 100 ml. Tốc độ chảy không được vượt quá 6 ml/phút.

8.7.2 Khi bình chứa trên đỉnh đã cạn hết, rửa thành bình với khoảng 15 ml nước và khi nước đã 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 và cho nước chảy qua cột với tốc độ lớn nhất.

8.7.3 Sau khi đã thu được gần 100 ml nước thoát ra, lấy bình định mức ra và thêm nước cho tới vạch và lắc đều.

8.8 Xác định

8.8.1 Dùng pipet lấy các thể tích như nhau (thí dụ 25 ml) của nước lọc (8.6.3) và nước thoát ra (8.7.3) cho vào các bình định mức dung tích 100 ml riêng biệt. Thêm nước vào mỗi bình để thu được thể tích khoảng 60 ml. Sau đó xử lý lượng chứa trong mỗi bình theo qui định trong 8.8.2, 8.8.3 và 8.8.4.

8.8.2 Thêm 6 ml dung dịch II (5.8.2) và sau đó thêm 5 ml dung dịch I (5.8.1). Lắc cẩn thận và để yên dung dịch trong 5 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp của mặt trời.

8.8.3 Thêm 2 ml dung dịch III (5.8.3). Lắc cẩn thận và để yên dung dịch 5 phút ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp của mặt trời. Thêm nước tới vạch và lắc đều.

8.8.4 Đo độ hấp thụ của dung dịch trong 15 phút so với độ hấp thụ của dung dịch của các thuốc thử trắng (8.9) ở bước sóng 538 nm.

8.9 Thử mẫu trắng

Tiến hành thử mẫu trắng của thuốc thử, sử dụng tất cả các thuốc thử, nhưng không dùng phần mẫu thử.

8.10 Đường chuẩn

8.10.1 Dùng pipet lấy 0-2-4-6-8-10-12-16 và 20 ml dung dịch chuẩn natri nitrit (5.9) cho vào các bình định mức dung tích 100 ml riêng biệt. Thêm nước vào mỗi bình đến thể tích khoảng 60 ml.

8.10.2 Tiến hành theo qui định trong 8.8.2 và 8.8.3.

TCVN 6268:1997

8.10.3 Đo độ hấp thụ của các dung dịch so với độ hấp thụ của dung dịch thứ nhất (không chứa natri nitrit) ở bước sóng 538 nm trong vòng 15 phút.

8.10.4 Vẽ đồ thị các độ hấp thụ thu được trong 8.10.3 tương ứng với các nồng độ của nitrit, microgam trên mililit, tính được từ các lượng dung dịch chuẩn natri nitrit được thêm vào (xem 8.10.1).

9 Biểu thị kết quả

9.1 Hàm lượng nitrit

9.1.1 Phương pháp tính và công thức

Hàm lượng nitrit của mẫu thử, biểu thị bằng miligam ion nitrit (NO_2^-) trên kilogam, tính theo công thức:

$$\frac{20000 \times c_1}{m \times V}$$

trong đó

c_1 là nồng độ của ion nitrit thu được từ đường chuẩn, tương ứng với độ hấp thụ đo được (8.8.4) của dung dịch thu được khi sử dụng dịch lọc, tính bằng microgam trên lít (8.6.3);

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

V là thể tích (8.8.1) lấy từ dịch lọc (8.6.3), tính bằng mililit.

Ghi kết quả chính xác đến 0,1 mg/kg.

9.1.2 Độ lặp lại

Độ chênh lệch giữa hai kết quả thu được trong một khoảng thời gian ngắn, do cùng một người tiến hành không được vượt quá 1 mg/kg.

9.2 Hàm lượng nitrat

9.2.1 Phương pháp tính và công thức:

Hàm lượng nitrat của mẫu thử, biểu thị bằng miligam ion nitrat (NO_3^-) trên kilogam, tính theo công thức:

$$1,35 \left(\frac{100000 \times c_2}{m \times V} - \text{NO}_2^- \right)$$

trong đó

c_2 là nồng độ của ion nitrit thu được từ đường chuẩn, tương ứng với độ hấp thụ đo được (8.8.4) của dung dịch thu được khi sử dụng nước thoát ra (8.7.3), tính bằng microgam trên lít;

NO_2^- là hàm lượng nitrit của mẫu thử được tính trong 9.1.1, tính bằng miligam trên kilogam;

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

V là thể tích (8.8.1) lấy từ nước thoát ra (8.7.3), tính bằng mililit.

Chú thích – Nếu tính đến khả năng khử của cột, hàm lượng nitrat của mẫu thử, biểu thị bằng miligam ion nitrat (NO_3) trên kilogam theo công thức:

$$1,35 \left(\frac{100\,000 \times c_2}{m \times V} - \text{NO}_2 \right) \frac{100}{r}$$

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

Ghi kết quả chính xác đến 0,1 mg/kg.

9.2.2 Độ tái lập

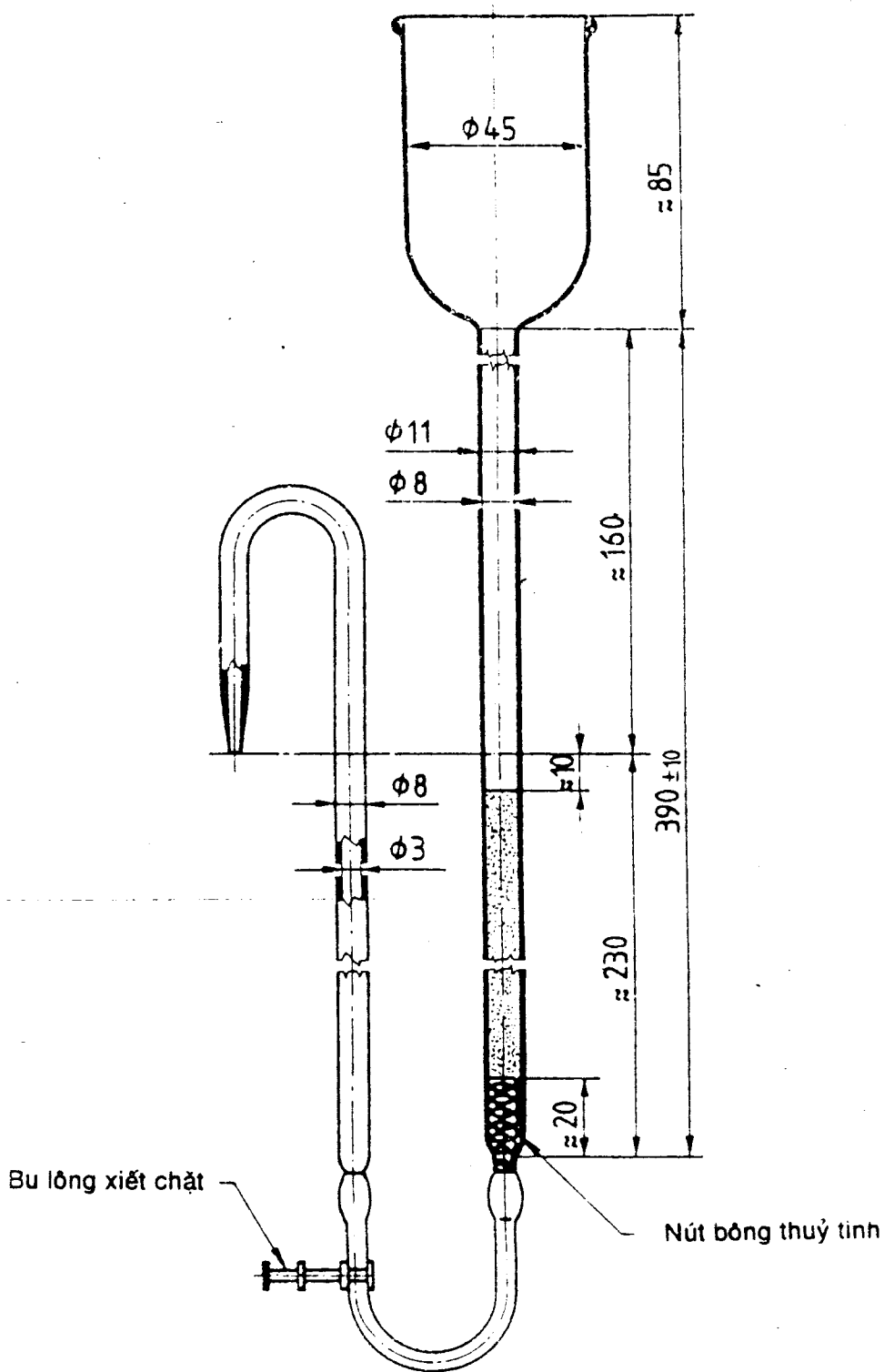
Độ chênh lệch giữa hai kết quả thu được trong một khoảng thời gian ngắn, do cùng một người tiến hành không được lớn hơn 3 mg/kg, nếu hàm lượng nitrat nhỏ hơn 30 mg/kg, và không được lớn hơn 10% giá trị trung bình cộng của các kết quả, nếu hàm lượng nitrat lớn hơn hoặc bằng 30 mg/kg.

10 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải chỉ ra phương pháp đã sử dụng và kết quả thu được. Nó cũng phải đề cập đến tất cả các chi tiết thao tác không qui định trong phần này của tiêu chuẩn, hoặc tùy ý lựa chọn, cùng với tất cả các tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Báo cáo kết quả cũng bao gồm mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử.

Kích thước tính theo milimet



Hình 1 – Thiết bị khử nitrat