

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10385:2014

EN 12135:1997

Xuất bản lần 1

**NƯỚC RAU, QUẢ - XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ –
PHƯƠNG PHÁP KJELDAHL**

Fruit and vegetable juices - Determination of nitrogen content - Kjeldahl method

HÀ NỘI – 2014

Lời nói đầu

TCVN 10385:2014 hoàn toàn tương đương EN 12135:1997;

TCVN 10385:2014 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F10 *Rau quả và sản phẩm rau quả* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Nước rau, quả - Xác định hàm lượng nitơ - Phương pháp Kjeldahl

*Fruit and vegetable juices - Determination of nitrogen content -
Kjeldahl method*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp Kjeldahl để xác định hàm lượng nitơ trong nước rau, quả và các sản phẩm liên quan.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*.

TCVN 8907:2011 (EN 1131:1994) *Nước rau, quả – Xác định tỷ trọng tương đối*.

ISO 5725:1986¹⁾, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests (Độ chụm của phương pháp thử – Xác định độ lặp lại và độ tái lập đối với phương pháp thử chuẩn bằng phép thử liên phòng thử nghiệm)*.

3 Định nghĩa và ký hiệu

3.1 Thuật ngữ và định nghĩa

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

¹⁾ ISO 5725:1986, *Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory test* dùng để thu được dữ liệu về độ chụm. Tiêu chuẩn này đã hủy và được thay bằng bộ tiêu chuẩn ISO 5725 (gồm 6 phần) và đã được chấp nhận thành bộ TCVN 6910 (ISO 5725).

TCVN 10385:2014

3.1.1

Hàm lượng nitơ tổng số (total nitrogen content)

Lượng nitơ có mặt trong sản phẩm và tương ứng với amoniac tạo thành và được xác định trong điều kiện cụ thể qui định trong tiêu chuẩn này, biểu thị bằng miligam trên lít hoặc miligam trên kilogram.

3.2 Ký hiệu

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các ký hiệu sau đây:

c là nồng độ chất;

ρ là nồng độ khối lượng;

φ là phần thể tích.

4 Nguyên tắc

Thủy phân phần mẫu thử bằng axit sulfuric đậm đặc, sử dụng chất xúc tác, để chuyển nitơ hữu cơ thành amoni sulfat; chỉnh dung dịch pha loãng đến pH kiềm, chưng cất amoniac giải phóng trong dung dịch axit boric dư, chuẩn độ bằng axit sulfuric hoặc axit clohydric để xác định amoniac liên kết bởi axit boric và tính hàm lượng nitơ trong mẫu từ lượng amoniac tạo thành.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước đạt loại 3 trong TCVN 4851:1989 (ISO 3696:1987).

5.1 Axit sulfuric, $\rho_{20}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/ml}$

CẢNH BÁO: Axit sulfuric đậm đặc là chất ăn mòn và dễ cháy, cần mang găng tay không thấm nước. Tránh tiếp xúc với da.

5.2 Dung dịch chuẩn axit sulfuric, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,05 \text{ mol/l}$.

5.3 Dung dịch chuẩn axit clohydric, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$, thay thế cho 5.2.

5.4 Kali sulfat (K_2SO_4).

5.5 Đồng (II) sulfat (CuSO_4), khan.

5.6 Đồng (II) sulfat ngậm 5 phân tử nước ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$), thay thế cho 5.5.

5.7 Hỗn hợp chất xúc tác, 100 g kali sulfat (5.4) và 10 g đồng (II) sulfat (5.5) hoặc 15,64 g đồng (II) sulfat ngậm 5 phân tử nước (5.6) trộn kỹ trong cối nghiền (6.8).

5.8 Selen dioxit (SeO_2).

5.9 Dung dịch natri hydroxit, hòa tan 400 g natri hydroxit (NaOH) trong nước và pha loãng đến 1 000 ml.

5.10 Dung dịch axit boric, hòa tan 20 g axit boric (H_3BO_3) trong nước và pha loãng đến 1 000 ml.

5.11 Dung dịch chỉ thị, chất chỉ thị hỗn hợp, được chuẩn bị bằng cách hòa tan 100 mg đỏ metyl và 50 mg xanh metylen trong 100 ml etanol $\varphi(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}) = 95 \%$.

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị dụng cụ thông thường của phòng thử nghiệm và các thiết bị, dụng cụ sau đây:

6.1 Bình kjeldahl, dung tích 100 ml.

6.2 Thiết bị thủy phân, có bộ phận hút hiệu quả, để hút hơi axit trong quá trình thủy phân.

6.3 Thiết bị chưng cất, ví dụ: loại Parnas-Wagner²⁾.

6.4 Pipet, dung tích 10 ml.

6.5 Ống đong, dung tích 25 ml.

6.6 Buret, chia độ 0,1 ml.

6.7 Bình nón.

6.8 Cối nghiền.

6.9 Viên trợ sôi.

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị mẫu thử

Thông thường các mẫu không cần xử lý trước, tuy nhiên có thể cần pha loãng và phép phân tích theo phương pháp này nên dựa vào thể tích, các kết quả được biểu thị trên 1 lít mẫu. Đối với các mẫu cô đặc, có thể cũng tiến hành phân tích dựa vào thể tích, sau khi pha loãng đến tỷ trọng tương đối đã biết. Trong trường hợp này, tỷ trọng tương đối phải được nêu rõ. Dựa vào lượng mẫu đã cân và hệ số pha

²⁾ Loại Parnas-Wagner là ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không ấn định phải sử dụng chúng.

TCVN 10385:2014

loãng, các kết quả có thể cũng được biểu thị trên 1 kg mẫu. Đối với các sản phẩm có độ nhớt cao và/hoặc có chứa lượng thịt quả rất cao thì thường tiến hành phép xác định theo khối lượng mẫu thử.

7.2 Qui trình thử nghiệm

7.2.1 Thủy phân

Dùng pipet lấy 10 ml mẫu thử (V_s) cho vào bình Kjeldahl (6.1) và chuyển vào bình vài viên trợ sôi (6.9). Làm nóng nhẹ bằng cách để trong hoặc trên thiết bị thủy phân (6.2) cho đến khi mẫu thử có màu đen nhưng không làm bay hơi đến khô hoàn toàn. Để nguội.

Dùng 4 ml axit sulfuric đậm đặc (5.1) cho một gam chất rắn hòa tan mà chủ yếu là đường để tính hàm lượng chất rắn hòa tan của mẫu thử từ tỷ trọng tương đối xác định được trong TCVN 8907 (EN 1131).

Sau khi nguội, chuyển vào bình Kjeldahl (6.1), lượng axit sulfuric đậm đặc (5.1) tính được cộng với 1 ml dư. Thêm 0,9 g hỗn hợp chất xúc tác (5.7) và hạt selen dioxit (5.8).

CHÚ THÍCH: Ví dụ, cứ 10 ml mẫu thử có tỷ trọng tương đối là 1,040 và 1 g chất rắn hòa tan cần đến 5 ml axit sulfuric đậm đặc (nghĩa là 4 ml cộng thêm 1 ml).

Làm nóng nhẹ lại trên hoặc trong thiết bị thủy phân (6.2), sau đó đun sôi cho đến khi dung dịch trong và thường xuyên lắc bình cho đến khi không có hạt nguyên liệu nào dính trên cổ bình. Sau đó, giữ chất lỏng sôi tiếp trong 60 min.

Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm cẩn thận khoảng 35 ml nước. Trộn và để nguội lại.

7.2.2 Chưng cất

Chuyển vào bình nón (6.7) 30 ml dung dịch axit boric (5.10) và một hoặc hai giọt dung dịch chất chỉ thị (5.11). Trộn. Đặt bình nón dưới bình ngưng sao cho đầu ra của ống ngập trong dung dịch axit boric.

Chuyển lượng chứa trong bình Kjeldahl vào thiết bị chưng cất (6.3). Dùng ống đong (6.5) bổ sung 20 ml dung dịch natri hydroxit (5.9).

Chưng cất để thu được khoảng 100 ml dịch chưng cất trong khoảng 4 min đến 5 min. Đảm bảo rằng dịch chưng cất được làm nguội hiệu quả và nhiệt độ của lượng chứa trong bình nón không vượt quá 25 °C trong suốt quá trình chưng cất. Khoảng 30 s trước khi kết thúc quá trình chưng cất, hạ thấp bình, nón sao cho đầu ra của ống không bị nhúng sâu trong dung dịch axit và tráng đầu ống bằng một lượng nhỏ nước.

7.2.3 Chuẩn độ

Chuẩn độ dịch chưng cất trong bình nón, sử dụng dung dịch chuẩn (5.2 hoặc 5.3) cho đến khi chất chỉ thị đổi sang màu hồng. Ghi lại thể tích (V) của axit sulfuric hoặc axit clohydric tiêu tốn.

8 Tính kết quả

Tính hàm lượng nitơ tổng số của mẫu thử, ρ_N , bằng miligam trên lít, sử dụng Công thức (1):

$$\rho_N = 1,4 \times V \times \frac{1000}{V_s} \quad (1)$$

Trong đó:

V là thể tích, dung dịch axit sulfuric (5.2) hoặc dung dịch axit clohydric (5.3) cần cho phép xác định, tính bằng mililit (ml);

V_s là thể tích của phần thử, tính bằng mililit (ml).

Cần tính đến hệ số pha loãng và mối liên hệ với khối lượng hoặc thể tích. Nếu mẫu cô đặc đã được pha loãng đến nồng độ đơn (nồng độ ban đầu) thì ghi lại tỷ trọng tương đối của mẫu có nồng độ đơn đó.

Biểu thị hàm lượng nitơ, ρ_N của mẫu thử đến số nguyên.

9 Độ chụm

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

9.1 Độ lặp lại

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

Độ lặp lại là: $r = 24 \text{ mg/l}$.

9.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ thu được khi tiến hành thử trên vật liệu thử, giống hệt nhau, do hai phòng thử nghiệm phân tích, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn giới hạn tái lập R .

Độ tái lập là: $R = 86 \text{ mg/l}$.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết mẫu (loại mẫu, nguồn gốc mẫu, ký hiệu);
- viện dẫn tiêu chuẩn này;
- ngày và phương pháp lấy mẫu (nếu biết);
- ngày nhận mẫu;
- ngày thử nghiệm;
- kết quả thử nghiệm và các đơn vị biểu thị;
- độ lặp lại của phương pháp đã được đánh giá;
- các điểm cụ thể quan sát được trong quá trình thử nghiệm;
- mọi thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các kết quả thống kê của phép thử liên phòng thử nghiệm

Các thông số sau đây thu được trong phép thử liên phòng thử nghiệm phù hợp với ISO 5725:1986 (Đối với tài liệu liên quan đến phương pháp, xem Thư mục Tài liệu tham khảo). Phép thử do Hiệp hội Quả quốc tế, Paris, Pháp tổ chức thực hiện.

Năm tiến hành phép thử liên phòng thử nghiệm:	1990
Số lượng các phòng thử nghiệm:	18
Số lượng mẫu:	2

Loại mẫu:

- A nước cam;
- B nước cà chua.

Bảng A.1 – Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Mẫu	A	B
Số lượng phòng thử nghiệm được giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	14	13
Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ	4	3
Số lượng các kết quả được chấp nhận	76	68
Giá trị trung bình (\bar{x}) (mg/ml)	1096	1347
Độ lệch chuẩn lặp lại (s_r) (mg/l)	6,91	10,37
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại (RSD_r) [%]	0,6	0,8
Giới hạn lặp lại (r) (mg/l)	19	29
Độ lệch chuẩn tái lập (s_R) (mg/l)	26,37	35,20
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập (RSD_R) [%]	2,4	2,6
Giới hạn tái lập (R) (mg/l)	74	99

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] *Determination of total nitrogen*: No. 28, 1991. In: The Collected Analyses of the International Federation of Fruit Juice Producers. Loose-leaf edition, as of 1996-Zug: Swiss Fruit Union.
-