

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 9933:2013
ISO 11543:2000**

Xuất bản lần 1

**TINH BỘT BIẾN TÍNH – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
HYDROXYPROPYL – PHƯƠNG PHÁP
PHỔ CỘNG HƯỞNG TỪ HẠT NHÂN (NMR) PROTON**

*Modified starch – Determination of hydroxypropyl content –
Method using proton nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometry*

HÀ NỘI - 2013

Lời nói đầu

TCVN 9933:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 11543:2000;

TCVN 9933:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F18 Đường, mật ong và sản phẩm tinh bột biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Tinh bột biến tính - Xác định hàm lượng hydroxypropyl - Phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) proton

Modified starch - Determination of hydroxypropyl content - Method using proton nuclear magnetic resonance (NMR) spectrometry

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân (NMR) proton để xác định hàm lượng hydroxypropyl của tinh bột biến tính dạng hạt.

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 9334:2013 (ISO 1666:1996), *Tinh bột – Xác định độ ẩm – Phương pháp dùng tủ sấy*

3 Nguyên tắc

Tinh bột biến tính được hòa tan bằng cách thủy phân từng phần trong dung dịch đơteri clorua trong đơteri oxit.

Đo tín hiệu đến từ ba proton của nhóm methyl trong nhóm chức hydroxypropyl.

Muối natri của axit 3-trimetylsilyl-1-propan sulfonic được sử dụng làm chất chuẩn nội.

4 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích.

4.1 Nước, phù hợp loại 3 trong TCVN 4851 (ISO 3696). Nước không được chứa cacbon dioxit.

4.2 Đoteri oxit, có độ tinh khiết ít nhất 99,8 %, trong lọ có nắp vặn 25 ml.

4.3 Đoteri oxit, độ tinh khiết ít nhất 99,95 %, trong ống kín 0,75 ml.

4.4 Dung dịch đoteri clorua, $c(\text{DCI}) \approx 2 \text{ mol/l}$.

Pha loãng 1 ml đoteri clorua đậm đặc [dạng thương mại, $w(\text{DCI}) \approx 38 \%$ (khối lượng) với 5 ml đoteri oxit (4.2).

4.5 Dung dịch chuẩn nội

Chuẩn bị dung dịch chuẩn nội bằng cách cân đồng thời chất chuẩn và dung môi.

Hòa tan khoảng 50 mg muối natri của axit 3-trimetylsilyl-1-propan sulfonic (TSPSA) (CAS No. 2039-96-51), đã được cân chính xác đến 0,1 mg, trong khoảng 5 g đoteri oxit (4.2), được cân chính xác đến 0,1 mg. Bảo quản trong lọ kín.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

5.2 Cốc có mỏ, dung tích 400 ml.

5.3 Bình Buchner và phễu.

5.4 Tủ sấy chân không, được trang bị bơm có thể duy trì áp suất không quá 10 kPa.

5.5 Ống đo, dài 5 mm, dùng cho NMR, được trang bị máy quay để ghi phổ trong khi quay.

5.6 Micropipet, dung tích 5 ml, độ chính xác đến 0,05 ml và các micropipet dung tích 0,1 ml và 0,05 ml, độ chính xác đến 0,001 ml.

5.7 Nồi cách thủy đun sôi

5.8 Máy đo phổ cộng hưởng từ hạt nhân, tần số tối thiểu 60 MHz, có thể thực hiện phổ proton và tiến hành phân tích định lượng.

5.9 Rây, có cỡ lỗ 800 μm .

5.10 Máy nghiền có lưỡi dao.

6 Lấy mẫu

Điều quan trọng là phòng thử nghiệm phải nhận đúng mẫu đại diện và mẫu không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này.

7 Chuẩn bị mẫu thử

Rây mẫu qua rây cỡ lỗ 800 μm (5.9). Nếu mẫu không lọt qua rây thì nghiền mẫu bằng máy nghiền có lưỡi dao (5.10) sao cho mẫu lọt hết qua rây cỡ lỗ 800 μm . Đồng hóa mẫu thử.

8 Cách tiến hành

8.1 Rửa mẫu

8.1.1 Cân khoảng 20 g mẫu thử đã chuẩn bị vào cốc có mỏ (5.2). Thêm 200 ml nước (4.1) ở nhiệt độ phòng và khuấy trộn 15 min.

Nếu thấy khó phân tán hoặc lọc chậm thì lặp lại thao tác trong 8.1.1 với nước (4.1) được làm lạnh.

8.1.2 Lọc tinh bột trên bình Buchner (5.3) dưới chân không.

8.1.3 Lặp lại hai lần các bước trong 8.1.1 và 8.1.2.

8.1.4 Sấy tinh bột đã rửa ít nhất 4 h trong tủ sấy chân không (5.4) ở nhiệt độ $(30 \pm 5) ^\circ\text{C}$.

8.2 Độ ẩm

Dùng 5 g phần mẫu thử, xác định độ ẩm của mẫu thử đã rửa và đã sấy (8.1.4) theo TCVN 9934 (ISO 1666).

8.3 Chuẩn bị dung dịch thử

8.3.1 Cân khoảng 12 mg (tính theo chất khô) mẫu thử đã rửa và đã sấy (8.1.4), chính xác đến 0,1 mg, cho vào ống đo (5.5).

8.3.2 Lấy đoteri oxit đựng trong ống (4.3) và dùng micropipet (5.6) lấy 0,1 ml dung dịch đoteri clorua (4.4) cho vào ống đo (5.5).

TCVN 9933:2013

8.3.3 Đậy nắp ống, trộn đều rồi đặt ống vào nồi cách thủy đun sôi (5.7).

8.3.4 Sau 3 min, nếu thu được dung dịch trong thì lấy ra và để nguội đến nhiệt độ phòng. Nếu dung dịch không trong thì tiếp tục xử lý trong nồi cách thủy (5.7) đến tối đa 1 h để thu được dung dịch trong.

8.3.5 Làm khô bên ngoài ống (5.5) rồi cân chính xác đến 0,1 mg. Dùng micropipet (5.6) thêm 0,05 ml dung dịch chuẩn nội (4.5) vào ống. Cân ống chính xác đến 0,1 mg, để xác định khối lượng của dung dịch chuẩn nội (4.5) đã bổ sung vào ống (5.5).

8.3.6 Trộn kỹ, chỉnh máy quay và đặt ống đo (5.5) vào thiết bị (5.8). Bắt đầu quay ống (5.5).

8.4 Ghi phổ

8.4.1 Cài đặt thiết bị sao cho thu được phổ thích hợp. Nên giãn thời gian trễ ít nhất 15 s đối với thiết bị Fourier transform (FT).

8.4.2 Dùng cửa sổ phổ từ -0,5 ppm đến +6 ppm so với tín hiệu methyl của TSPSA ở 0 ppm.

8.4.3 Đối với thiết bị FT-NMR, biến đổi FID (phân rã cảm ứng tự do) thành phổ và khởi động chương trình con tích phân sau khi hiệu chỉnh pha.

8.4.4 Đo diện tích pic của nhóm đôi từ nhóm methyl của nhóm chức hydroxypropyl ở +1,2 ppm và của các nhóm methyl của TSPSA ở 0 ppm sau khi hiệu chỉnh đường nền.

9 Tính và biểu thị kết quả

Tính hàm lượng hydroxypropyl, w_h , của mẫu thử khô theo công thức sau:

$$w_h = \frac{3A_h}{A_{is}} \times \frac{w_{is} \times m_{is}}{M_{is}} \times M_h \times \frac{100\%}{m} \times \frac{100\%}{100\% - w_m}$$

Trong đó:

w_h là hàm lượng hydroxypropyl của mẫu thử khô, tính bằng phần trăm khối lượng (%);

A_h là diện tích các nhóm methyl của hydroxypropyl, tính bằng đơn vị diện tích;

A_{is} là diện tích của các nhóm methyl trong chất chuẩn nội (TSPSA), tính bằng đơn vị diện tích;

3 là con số thể hiện ba nhóm methyl trong TSPSA;

w_{is} là phần khối lượng TSPSA trong dung dịch chuẩn nội (4.5), tính bằng miligam trên gam (mg/g);

- m_{is} là khối lượng dung dịch chuẩn nội (4.5) trong ống NMR (xem 8.3.5), tính bằng gam (g);
- M_{is} là khối lượng phân tử TSPSA, tính bằng gam trên mol (g/mol), ($M_{is} = 218$ g/mol);
- M_h là khối lượng phân tử nhóm chức hydroxypropyl tính bằng gam trên mol (g/mol), ($M_h = 59$ g/mol);
- m là khối lượng mẫu thử đã rửa và sấy khô trong ống NMR (xem 8.3.1), tính bằng miligam (mg);
- w_m là độ ẩm của mẫu thử khô đã rửa (xem 8.2), tính bằng phần trăm khối lượng (%).

Báo cáo kết quả chính xác đến 0,1 % (khối lượng).

10 Độ chụm

10.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các 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 chất nền mẫu khác với các dải nồng độ và chất nền mẫu đã nêu.

10.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm 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 nêu trong Bảng 1.

10.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % trường hợp vượt quá giá trị giới hạn tái lập (R) nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Giới hạn lặp lại (*r*) và giới hạn tái lập (*R*)

Hàm lượng hydroxypropyl trung bình % (khối lượng)	<i>r</i> % (khối lượng)	<i>R</i> % (khối lượng)
0,82	0,31	0,48
3,35	0,98	0,98
3,60	0,76	0,95
5,80	0,70	1,72
6,40	2,33	2,59

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng;
- phương pháp thử đã sử dụng;
- 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.
- kết quả thử nghiệm thu được hoặc hai kết quả thử nghiệm thu được nếu kiểm tra độ lặp lại.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Một phép thử cộng tác quốc tế gồm mười phòng thử nghiệm tham gia tiến hành trên năm mẫu khác nhau của tinh bột khoai tây, tinh bột ngô nếp, tinh bột ngô tự nhiên liên kết ngang và tinh bột ngô nếp liên kết ngang.

Các kết quả thu đã được phân tích thống kê theo ISO 5725¹⁾ cho dữ liệu về độ chụm nêu trong Bảng A.1

Bảng A.1 – Các kết quả thống kê của phép thử liên phòng thử nghiệm

Thông số	Mẫu ^a				
	1	2	3	4	5
Số lượng phòng thử nghiệm được giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	9	9	9	9	9
Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ	1	1	1	1	1
Số lượng các kết quả được chấp nhận	18	18	18	18	18
Hàm lượng hydroxypropyl tổng số trung bình, % (khối lượng)	5,8	3,35	0,82	3,60	6,40
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , % (khối lượng)	0,25	0,34	0,11	0,27	0,82
Hệ số biến thiên lặp lại %	4,3	10,3	13,4	7,45	12,9
Giới hạn lặp lại, r [$r=2,8 \times s_r$], % (khối lượng)	0,70	0,98	0,31	0,76	2,33
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , % (khối lượng)	0,61	0,34	0,17	0,34	0,91
Hệ số biến thiên tái lập, %	10,4	10,3	21,0	9,36	14,3
Giới hạn tái lập, R [$R=2,8 \times s_R$], % (khối lượng)	1,72	0,98	0,48	0,95	2,59
^a 1: ete tinh bột ngô nếp và tinh bột ngô lai; 2: ete tinh bột khoai tây; 3: ete tinh bột ngô, đã pha loãng; 4: ete tinh bột ngô nếp và tinh bột ngô lai; 5: ete tinh bột ngô nếp và tinh bột ngô lai.					

¹⁾ ISO 5725:1986, (đến nay đã hủy) được sử dụng để thu dữ liệu về độ chụm.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] ISO 5725:1986, *Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.*
- [2] TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo - Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung*
- [3] TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.*
-