

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10138:2013

ISO 27871:2011

Xuất bản lần 1

**PHOMAT VÀ PHOMAT CHẾ BIẾN –
XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN NITƠ**

Cheese and processed cheese – Determination of the nitrogenous fractions

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 10138:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 27871:2011;

TCVN 10138:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F12 *Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Phomat và phomat chế biến – Xác định thành phần nitơ

Cheese and processed cheese – Determination of the nitrogenous fractions

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định các thành phần (phần đoạn) nitơ trong phomat và phomat chế biến từ sữa bò.

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 8099-1 (ISO 8968-1), *Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 1: Phương pháp Kjeldahl*

TCVN 8099-2 (ISO 8968-2), *Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 2: Phương pháp phân huỷ kín (Phương pháp Macro)*

3 Các từ viết tắt

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các từ viết tắt sau đây:

TN	phần khối lượng nitơ tổng số	g(N)/100 g
SN	phần khối lượng nitơ hòa tan	g(N)/100 g
TCA-SN	phần khối lượng nitơ hòa tan trong axit tricloaxetic	g(N)/100 g
PTA-SN	phần khối lượng nitơ hòa tan trong axit phosphotungstic	g(N)/100 g

4 Nguyên tắc

Các phân đoạn thu được sau khi tách bằng cách làm kết tủa các chất không tan trong môi trường có pH 4,4 (SN) hoặc trong axit tricloaxetic 12 % (TCA-SN) hoặc trong axit phosphotungstic (PTA-SN). Xác định hàm lượng nitơ trong mỗi phân đoạn có trong các dịch lọc thu được theo các quy trình quy định trong TCVN 8099-1 (ISO 8968-1) hoặc TCVN 8099-2 (ISO 8968-2).

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, trừ khi có quy định khác.

5.1 Nước, phù hợp với loại 3 trong TCVN 4851 (ISO 3696)^[4] hoặc nước có chất lượng tương đương.

5.2 Dung dịch trinatri xitrat ngậm hai phân tử nước, $c(\text{C}_6\text{H}_5\text{NA}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}) = 0,5 \text{ mol/l}$

Cân 147,05 g trinatri xitrat ngậm hai phân tử nước trong bình định mức một vạch 1 000 ml (6.8). Lắc để hòa tan. Thêm nước đến vạch và trộn.

5.3 Dung dịch axit clohydric, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

5.4 Dung dịch axit tricloaxetic ($\text{C}_2\text{HCl}_3\text{O}_2$) (TCA), với 24 % khối lượng/thể tích TCA.

5.5 Dung dịch axit phosphotungstic ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40} \cdot x\text{H}_2\text{O}$) (PTA), với 25 % khối lượng/thể tích PTA.

5.6 Dung dịch axit sulfuric (H_2SO_4), với 25 % khối lượng H_2SO_4 ($\rho_{20} \approx 1,84 \text{ g/ml}$)

Chuẩn bị dung dịch axit sulfuric bằng cách thêm cẩn thận và trộn 260 g H_2SO_4 98 % vào 740 g nước. Sử dụng dung dịch thu được trong phép xác định nitơ.

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:

6.1 Máy nghiền hoặc máy xay phòng thử nghiệm, để làm sạch và thích hợp cho việc chuẩn bị mẫu thử.

6.2 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg, có thể đọc được đến 0,1 mg.

6.3 Bộ đồng hóa hoặc máy trộn [ví dụ: kiểu Ultraturrax T25¹⁾], được trang bị khối quay có thể tạo được huyền phù có cỡ hạt từ 10 μm đến 50 μm .

6.4 Cốc có mỏ, dung tích 250 ml.

6.5 Ống đong, dung tích 50 ml, 100 ml và 200 ml, phù hợp với loại A trong TCVN 8488 (ISO 4788)^[5].

¹⁾ Ultraturrax T25 là ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra để thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm nêu trên

6.6 Nồi cách thủy, có thể duy trì được ở nhiệt độ $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.7 Bộ khuấy từ, được trang bị thanh nam châm (tùy chọn).

6.8 Bình định mức một vạch, dung tích 100 ml và 200 ml, phù hợp với loại A quy định trong TCVN 7153 (ISO 1042)^[3].

6.9 Pipet chia vạch, dung tích 15 ml, 20 ml và 50 ml, phù hợp với loại A quy định trong TCVN 7150 (ISO 835)^[2].

6.10 Máy đo pH, có thể đo chính xác đến 0,01 đơn vị pH.

6.11 Phễu thủy tinh.

6.12 Bộ lọc, có cỡ lỗ 8 μm [ví dụ: giấy lọc Whatman 40²⁾].

7 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện, không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không được quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707)^[1].

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

Trước khi phân tích, loại bỏ cùi, các đốm bẩn hoặc lớp bề mặt mốc để lấy được mẫu đại diện là phần phomat ăn được. Nghiền hoặc xay mẫu thử bằng máy nghiền hoặc máy xay (6.1). Trộn thật nhanh phần mẫu nghiền.

Ví dụ: đối với phomat cứng và bán cứng, có thể cần phải nghiền lần thứ hai và trộn kỹ. Tốt nhất, cắt phomat cứng và bán cứng thành hình khối có cạnh khoảng 15 mm rồi nghiền như trên. Làm sạch dụng cụ sau khi chuẩn bị mẫu. Nếu phần mẫu thử không thể nghiền hoặc xay thì trộn kỹ bằng cối và chày. Tránh làm thất thoát ẩm. Bảo quản mẫu đã chuẩn bị trong hộp kín khí cho đến khi phân tích. Tốt nhất là nên phân tích mẫu ngay sau khi nghiền.

Nếu không thể phân tích ngay, cần chú ý để bảo quản mẫu đúng cách.

Nếu mẫu được bảo quản lạnh, thì đưa mẫu về nhiệt độ phòng. Trộn kỹ mẫu (tránh mẫu bị hút ẩm trong quá trình làm lạnh và làm ấm mẫu). Đảm bảo rằng mọi sự ngưng tụ ẩm phía trong bề mặt hộp đựng

TCVN 10138:2013

mẫu đều được kết hợp đều vào mẫu thử. Không phân tích khi mẫu phomat có thấy nấm mốc phát triển hoặc có dấu hiệu hư hỏng.

8.2 Xác định các phân đoạn nitơ khác nhau

8.2.1 Hàm lượng nitơ tổng số (TN)

Lấy một phần mẫu thử phomat đã nghiền (8.1) tùy theo hàm lượng nitơ dự kiến có trong phomat và để thu được 0,025 g nitơ trên một ống phân hủy. Xác định hàm lượng nitơ tổng số theo quy định trong TCVN 8099-1 (ISO 8968-1) hoặc TCVN 8099-2 (ISO 8968-2).

8.2.2 Chuẩn bị dung dịch phomat trong xitrat

Cân khoảng 20 g phomat nghiền (8.1), chính xác đến 1 mg, cho vào cốc có mỏ 250 ml. Dùng ống đong, thêm 100 ml dung dịch xitrat (5.2) và trộn. Đặt hỗn hợp vào nồi cách thủy (6.6) duy trì ở 45 °C trong 15 min trong khi vẫn lắc thường xuyên (lắc thủ công hoặc sử dụng bộ khuấy từ). Nếu sử dụng thanh nam châm (6.7) thì chú ý tránh thanh khuấy để tránh làm thất thoát nitơ.

Sử dụng bộ đồng hóa hoặc máy trộn (6.3), khuấy trộn cho đến khi thu được huyền phù đồng nhất. Tráng cánh khuấy của máy trộn và bộ đồng hóa bằng nước (5.1), thu lấy nước tráng vào cốc có mỏ.

Đặt hỗn hợp thu được vào nồi cách thủy (6.6) duy trì ở 45 °C cho đến khi hòa tan hoàn toàn trong tối đa 1 h. Nếu có các miếng nhỏ không tan, thì đồng hóa thêm hỗn hợp trong bộ đồng hóa (6.3). Sau đó tráng cánh khuấy như trên và thu lấy nước tráng vào cốc có mỏ.

Chuyển hết lượng chứa trong cốc có mỏ sang bình định mức 200 ml (6.8). Tráng cốc có mỏ và cho nước tráng vào bình định mức. Trộn đều hỗn hợp và để hỗn hợp nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm nước (5.1) đến vạch.

Phomat chế biến cũng có thể được hòa tan trong nước (5.1).

8.2.3 Chuẩn bị phân đoạn nitơ hòa tan (SN)

Sử dụng pipet chia vạch (6.9) lấy 50 ml dung dịch phomat trong xitrat thu được trong 8.2.2 cho vào cốc có mỏ. Thêm khoảng 11 ml dung dịch axit clohydric (5.3). Kiểm tra pH và chỉnh đến $4,4 \pm 0,05$, nếu cần.

Chuyển hết lượng chứa trong cốc có mỏ sang bình định mức 100 ml (6.8). Thêm nước (5.1) đến vạch và trộn. Lọc dung dịch qua bộ lọc (6.12). Dùng pipet chia vạch (6.9) chuyển 15 ml dịch lọc sang ống phân hủy. Tiến hành phân hủy và xác định hàm lượng SN theo TCVN 8099-1 (ISO 8968-1) hoặc TCVN 8099-2 (ISO 8968-2).

²⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra để thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm nêu trên. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

8.2.4 Chuẩn bị phân đoạn nitơ hòa tan trong axit tricloaxetic (TCA-SN)

Sử dụng pipet chia vạch (6.9) lấy 50 ml dung dịch phomat trong xitrat thu được trong 8.2.2 cho vào bình định mức một vạch 100 ml (6.8). Thêm dung dịch TCA 24 % (5.4) đến vạch và trộn.

Lọc dung dịch qua bộ lọc (6.12). Dùng pipet chia vạch (6.9) chuyển 20 ml dịch lọc sang ống phân hủy. Tiến hành phân hủy và xác định hàm lượng TCA-SN theo TCVN 8099-1 (ISO 8968-1) hoặc TCVN 8099-2 (ISO 8968-2).

8.2.5 Chuẩn bị phân đoạn nitơ hòa tan trong axit phosphotungstic (PTA-SN)

Sử dụng pipet chia vạch (6.9) lấy 50 ml dung dịch phomat trong xitrat thu được trong 8.2.2 cho vào bình định mức một vạch 100 ml (6.8). Thêm 20 ml dung dịch PTA 25 % (5.5) và trộn. Thêm dung dịch axit sulfuric 25 % (5.6) đến vạch và trộn.

Lọc dung dịch qua bộ lọc (6.12). Dùng pipet chia vạch (6.9) chuyển 20 ml dịch lọc sang ống phân hủy. Tiến hành phân hủy và xác định hàm lượng PTA-SN theo TCVN 8099-1 (ISO 8968-1) hoặc TCVN 8099-2 (ISO 8968-2).

CHÚ THÍCH: Cho phép cân các phần mẫu thử trong dung dịch xitrat và dịch lọc (để phân hủy) trong 8.2.3, 8.2.4 và 8.2.5 trong các điều kiện thực hiện các dung dịch pha loãng cuối cùng theo phần khối lượng (thay cho phần thể tích).

8.3 Phép thử trắng

Thực hiện phép thử trắng đồng thời với phép xác định, sử dụng cùng quy trình như trong 8.2.3 đến 8.2.5, nhưng không dùng phần mẫu thử (dung dịch xitrat không có phomat).

9 Tính và biểu thị kết quả

9.1 Tính kết quả

Tính hàm lượng nitơ trong các phân đoạn nitơ khác nhau của mẫu thử, w_{SN} , biểu thị bằng miligam nitơ trên 100 g mẫu thử, sử dụng công thức sau:

$$w_{SN} = \frac{1,4007 \times (V_s - V_b) \times c_r}{f_w}$$

Trong đó:

w_{SN} là hàm lượng nitơ hòa tan của các phân đoạn nitơ khác nhau ($w_{SN4,4}$, w_{TCA-SN} , w_{PTA-SN}) của mẫu thử, tính bằng gam nitơ trên 100 g mẫu thử (g/100 g);

V_s là thể tích dung dịch axit clohydric đã sử dụng trong phép xác định, tính bằng mililit (ml);

V_b là thể tích dung dịch axit clohydric đã sử dụng trong phép thử trắng, tính bằng mililit (ml);

TCVN 10138:2013

c_r là nồng độ của dung dịch chuẩn axit clohydric đã sử dụng, tính bằng mol trên lít (mol/l);

f_w là "hệ số làm việc", phụ thuộc lượng mẫu thử, các dung dịch pha loãng khác nhau và thể tích dịch chiết dùng cho bước phân hủy ($f_w = 0,75$ đối với các phân đoạn SN; $f_w = 1,00$ đối với các phân đoạn TCA-SN và PTA-SN).

9.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

10 Độ chụm

10.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

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

Các giá trị thu được từ các phép thử liên phòng đã được phân tích theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[6] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[7].

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 một phương pháp, trên cùng một loại vật liệu thử, trong cùng phòng thử nghiệm, do cùng một người phân tích và sử dụng cùng một thiết bị trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn đối với nitơ hòa tan:

Ở pH 4,4: 0,053 g nitơ trên 100 g mẫu thử;

Trong TCA: 0,039 g nitơ trên 100 g mẫu thử;

Trong PTA: 0,028 g nitơ trên 100 g mẫu thử.

10.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ, thu được khi tiến hành trên cùng một loại vật liệu thử, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau trong các phòng thử nghiệm khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn đối với nitơ hòa tan:

Ở pH 4,4: 0,089 g nitơ trên 100 g mẫu thử;

Trong TCA: 0,047 g nitơ trên 100 g mẫu thử;

Trong PTA: 0,091 g nitơ trên 100 g mẫu thử.

11 Báo cáo thử nghiệm

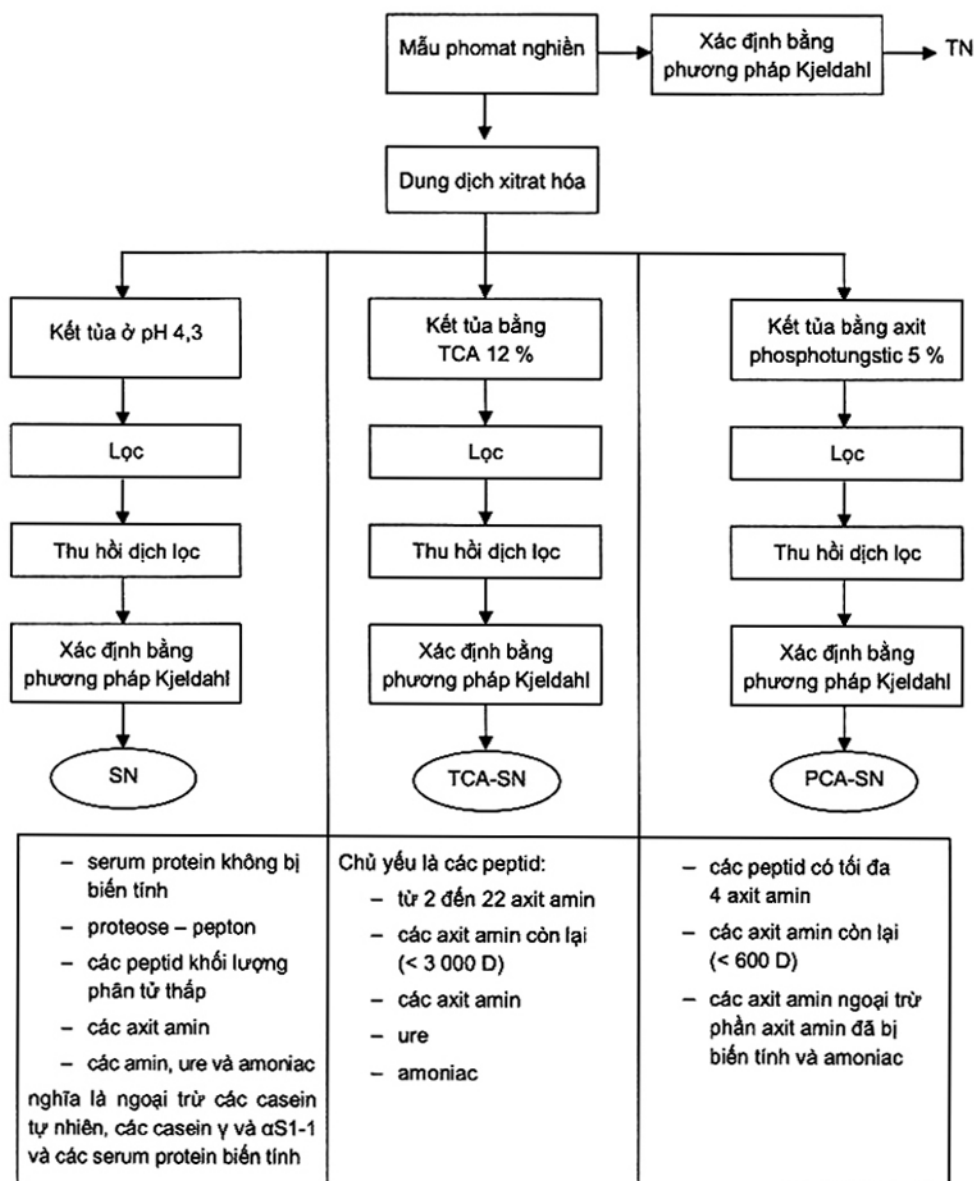
Báo cáo thử nghiệm ít nhất phải bao gồm các thông tin sau:

- a) mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các thao tác chi tiết không quy 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;
- e) kết quả thử nghiệm thu được;
- f) kết quả cuối cùng nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại.

Phụ lục A

(Quy định)

Sơ đồ của phương pháp



Phụ lục B
(Tham khảo)

Phép thử cộng tác

B.1 Yêu cầu chung

Một nghiên cứu cộng tác gồm có chín phòng thử nghiệm tham gia đã thực hiện trên sáu mẫu thử được chia thành các cặp mẫu mù. Các kết quả thu được được biểu thị bằng gam nitơ trên 100 g mẫu thử.

Nghiên cứu này được thực hiện trên các mẫu do Actilait/Ceralait, Poligny (FR) chuẩn bị và cung cấp, các kết quả đã được phân tích theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[6] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[7] để cho độ chụm nêu trong Bảng B.1 đến B.3.

Bảng B.1 – Kết quả của phép nghiên cứu liên phòng thử nghiệm về nitơ hòa tan ở pH 4,4 (gam nitơ trên 100 g mẫu thử)

Thông số	Mẫu						Trung bình
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ ^a	9	9	9	8	7	8	
Giá trị trung bình	0,420	0,513	0,183	0,633	1,250	0,696	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,017	0,015	0,008	0,012	0,026	0,029	0,019
Giới hạn lặp lại, r (2,8 s_r)	0,049	0,041	0,024	0,033	0,072	0,082	0,053
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,038	0,033	0,018	0,041	0,030	0,029	0,032
Giới hạn tái lập, R (2,8 s_R)	0,108	0,094	0,050	0,117	0,085	0,082	0,089
Hệ số biến thiên lặp lại, $C_{V,r}$ (%)	4,117	2,853	4,597	1,856	2,043	4,178	
Hệ số biến thiên tái lập, $C_{V,R}$ (%)	9,102	6,458	9,631	6,510	2,398	4,187	
^a Sau khi đã loại trừ 1 % ngoại lệ Grubbs và Cochran.							

Bảng B.2 – Kết quả của phép nghiên cứu liên phòng thử nghiệm về nitơ hòa tan trong TCA (gam nitơ trên 100 g mẫu thử)

Thông số	Mẫu						Trung bình
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ ^a	8	7	7	8	8	8	
Giá trị trung bình	0,172	0,250	0,094	0,385	0,876	0,352	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,018	0,007	0,007	0,024	0,013	0,009	0,014
Giới hạn lặp lại, r ($2,8 s_r$)	0,052	0,020	0,020	0,067	0,036	0,025	0,039
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,018	0,008	0,007	0,024	0,024	0,011	0,017
Giới hạn tái lập, R ($2,8 s_R$)	0,052	0,022	0,021	0,069	0,067	0,031	0,047
Hệ số biến thiên lặp lại, $C_{v,r}$ (%)	10,634	2,873	7,522	6,169	1,472	2,556	
Hệ số biến thiên tái lập, $C_{v,R}$ (%)	10,634	3,086	7,890	6,367	2,691	3,086	

^a Sau khi đã loại trừ 1 % ngoại lệ Grubbs và Cochran.

Bảng B.3 – Kết quả của phép nghiên cứu liên phòng thử nghiệm về nitơ hòa tan trong PTA (gam nitơ trên 100 g mẫu thử)

Thông số	Mẫu						Trung bình
	S1	S2	S3	S4	S5	S6	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ ^a	7	7	7	6	7	6	
Giá trị trung bình	0,057	0,074	0,045	0,162	0,420	0,163	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,008	0,009	0,006	0,008	0,017	0,007	0,010
Giới hạn lặp lại, r ($2,8 s_r$)	0,022	0,025	0,017	0,023	0,049	0,019	0,028
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,009	0,011	0,007	0,031	0,069	0,024	0,033
Giới hạn tái lập, R ($2,8 s_R$)	0,026	0,031	0,020	0,088	0,196	0,067	0,091
Hệ số biến thiên lặp lại, $C_{v,r}$ (%)	13,880	11,954	13,046	4,936	4,135	4,141	
Hệ số biến thiên tái lập, $C_{v,R}$ (%)	15,978	15,079	15,853	19,178	16,473	14,557	

^a Sau khi đã loại trừ 1 % ngoại lệ Grubbs và Cochran.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu*
 - [2] TCVN 7150 (ISO 835), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet chia độ*
 - [3] TCVN 7153 (ISO 1042), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức*
 - [4] TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*
 - [5] TCVN 8488 (ISO 4788), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Ống đong chia độ*
 - [6] TCVN 6910-1 (ISO 5725-1), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung*
 - [7] TCVN 6910-2 (ISO 5725-2), *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*
 - [8] Chemical methods for evaluating proteolysis in cheese maturation — List of criteria for evaluation of accelerated ripening of cheese. *Bull. IDF* 1991, (261), pp. 1-36
 - [9] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Chemical methods for evaluating proteolysis in cheese maturation (Part 2). *Bull. IDF* 1999, (337), pp. 1-32
 - [10] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Report of the interlaboratory study of ISO 278711|IDF 224. *Bull. IDF* (in press)
-