

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 9936:2013  
ISO 3188-1978**

Xuất bản lần 1

**TINH BỘT VÀ SẢN PHẨM TINH BỘT –  
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ BẰNG PHƯƠNG PHÁP  
KJELDAHL – PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ**

*Starches and derived products – Determination of nitrogen content  
by the Kjeldahl method – Titrimetric method*

HÀ NỘI – 2013

**Lời nói đầu**

TCVN 9936:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 3188:1978;

TCVN 9936:2013 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 và sản phẩm tinh bột - Xác định hàm lượng nitơ bằng phương pháp Kjeldahl - Phương pháp chuẩn độ

*Starches and derived products - Determination of nitrogen content by the Kjeldahl method - Titrimetric method*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp Kjeldahl - chuẩn độ để xác định hàm lượng nitơ của tinh bột và các sản phẩm tinh bột có hàm lượng nitơ được dự đoán lớn hơn 0,01 % (khối lượng)<sup>1)</sup>.

**CHÚ THÍCH** Trong tinh bột và các sản phẩm tinh bột không bổ sung nitơ, thì nitơ có mặt chủ yếu ở dạng protein và/hoặc amino axit.

### 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 10034 (ISO 1871), *Thực phẩm và thức ăn chăn nuôi – Nguyên tắc chung đối với việc xác định nitơ bằng phương pháp Kjeldahl*

TCVN 9937 (ISO 5378), *Tinh bột và sản phẩm tinh bột – Xác định hàm lượng nitơ bằng phương pháp Kjeldahl – Phương pháp quang phổ*

ISO 1227/Add.2<sup>2)</sup>, *Starch, including derivatives and by-products – Vocabulary (Tinh bột, bao gồm sản phẩm tinh bột và các sản phẩm phụ – Từ vựng)*

<sup>1)</sup> Đối với các sản phẩm có hàm lượng nitơ được dự đoán nhỏ hơn 0,025 % (khối lượng), xem TCVN 9937 (ISO 5378).

<sup>2)</sup> Tiêu chuẩn này đã hủy.

### 3 Thuật ngữ, định nghĩa

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

#### 3.1

**Hàm lượng nitơ** (nitrogen content):

Hàm lượng chất thu được bằng qui trình qui định trong tiêu chuẩn này. Hàm lượng nitơ bao gồm hàm lượng nitơ của các axit amin tự do, các hợp chất axit amin tạo thành khi thủy phân và các hợp chất amoni. Hàm lượng nitơ không bao gồm nitơ gốc nitrat và nitrit, nitơ được gắn trực tiếp với nguyên tử nitơ khác hoặc nitơ gắn với nguyên tử oxy.

### 4 Nguyên tắc

Phân hủy chất hữu cơ bằng axit sulfuric với sự có mặt của chất xúc tác<sup>3)</sup>, kiềm hóa các sản phẩm phản ứng, chưng cất amoni giải phóng và thu vào dung dịch axit boric, sau đó được chuẩn độ bằng dung dịch axit sulfuric chuẩn.

### 5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các loại thuốc thử loại tinh khiết phân tích. Nước được sử dụng phải là nước cất không chứa amoni hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

**5.1 Axit sulfuric**, đậm đặc,  $\rho_{20} = 1,84$  g/ml [96 % (khối lượng)].

**5.2 Dung dịch natri hydroxit**, 30 % (khối lượng),  $\rho_{20} = 1,33$  g/ml.

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng dung dịch đậm đặc hơn.

**5.3 Dung dịch axit boric**, 20 g/l <sup>4)</sup>

**5.4 Hỗn hợp chất xúc tác** <sup>5)</sup>, ví dụ, bao gồm

- kali sulfat: 97 g;
- đồng (II) sulfat, dạng khan: 3 g

**5.5 Axit sulfuric**, dung dịch chuẩn khoảng 0,01 M (0,02 N) hoặc 0,05 M (0,1 N).

**5.6 Chất chỉ thị màu**, được chuẩn bị bằng cách trộn 2 phần thể tích dung dịch bão hòa nguội của đỏ metyl trung tính trong etanol 50 % (thể tích) với 1 phần thể tích dung dịch xanh metylen 0,25 g/l trong etanol 50 % (thể tích).

Bảo quản chất chỉ thị trong lọ thủy tinh màu nâu.

<sup>3)</sup> Xem TCVN 10034 (ISO 1871).

<sup>4)</sup> Đối với hàm lượng nitơ biết trước thấp, có thể cần dung dịch ít đậm đặc hơn để thu được độ chính xác cao hơn.

<sup>5)</sup> Xem 5.2 của TCVN 10034 (ISO 1871).

## 6 Thiết bị, dụng cụ

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

**6.1 Bình Kjeldahl**, dung tích thích hợp, thông thường từ 500 ml đến 800 ml, tốt nhất là có khớp nối thủy tinh mài và được trang bị bầu thủy tinh hình quả lê gắn kín phía trên cổ bình.

**6.2 Giá phân hủy**, có thể để bình Kjeldahl (6.1) ở tư thế nghiêng sao cho nhiệt được cung cấp ở phần dưới mức chất lỏng, ở tất cả các giai đoạn.

**6.3 Thiết bị chưng cất hoặc thiết bị chưng cất bằng hơi nước**, có phễu nhỏ giọt chia vạch dung tích 200 ml, đầu phun hiệu quả và cổ thoát nối bình Kjeldahl (6.1) với bộ sinh hàn.

Có thể sử dụng thiết bị tương đương đáp ứng các phép thử kiểm soát nêu trong TCVN 10034 (ISO 1871).

**6.4 Buret**, dung tích 25 ml, được chia vạch 0,05 ml hoặc dung tích 10 ml được chia vạch 0,01 ml.

**6.5 Máy nghiền cơ học hoặc cối giã**

**6.6 Rây**, có cỡ lỗ danh nghĩa 0,6 mm, phù hợp với các yêu cầu trong TCVN 2230 (ISO 565) [1].

**6.7 Cân phân tích.**

## 7 Cách tiến hành

### 7.1 Chuẩn bị mẫu thử

Trộn kỹ và nhanh mẫu thử trong vật chứa mẫu <sup>6)</sup> bằng cách lắc hộp đựng mẫu hoặc khuấy bằng thìa. Nếu hộp đựng mẫu quá nhỏ thì chuyển toàn bộ mẫu sang hộp đựng mẫu khác có kích thước lớn hơn đã được sấy khô trước để dễ trộn.

Có thể cần phải nghiền mẫu, sao cho mẫu lọt hết qua rây (6.6).

### 7.2 Phân mẫu thử

Cân khoảng 10 g (khối lượng *m*) mẫu thử (7.1), chính xác đến 0,001 g, tùy thuộc vào hàm lượng nitơ dự đoán, rồi chuyển vào bình Kjeldahl (6.1) đã được làm khô trước, tiến hành cẩn thận để mẫu không bám dính vào phía trong cổ bình.

Trong trường hợp sản phẩm dạng sánh hoặc dạng nhão thì phần mẫu thử có thể được cân trong vật chứa thủy tinh nhỏ hoặc để trên tấm nhôm, giấy hoặc chất dẻo không sinh nitơ hoặc đã biết hàm lượng nitơ rồi đặt vào bình. Nếu vật chứa có sinh nitơ thì cần tính đến trong phép thử trắng (7.6).

<sup>6)</sup> Trong trường hợp syro glucoza, loại bỏ lớp phía trên (khoảng 5 mm) trước khi trộn.

### **7.3 Phân hủy chất hữu cơ**

Thêm 10 g hỗn hợp xúc tác (5.4) và dùng ống đong thích hợp để thêm một thể tích thích hợp của axit sulfuric đậm đặc (5.1), tính bằng mililit, được tính bằng công thức  $20 + 4m$ , sao cho axit chảy dọc theo cổ bình.

Trộn đều lượng chứa trong bình bằng cách xoay nhẹ bình cho đến khi hỗn hợp không còn vón cục và phần mẫu thử thấm ướt hoàn toàn. Để tránh bị quá nhiệt, thêm chất trợ sôi (ví dụ bi thủy tinh). Chèn bầu thủy tinh hình quả lê (xem 6.1) vào trong cổ bình rồi đặt bình tư thế nghiêng trên giá phân hủy (6.2).

Đun cẩn thận cho đến khi chất lỏng trong bình sôi nhẹ. Tiếp tục đun 1 h sau khi dịch lỏng đã trong. Trong trường hợp thiết bị phân hủy được đốt nóng bằng ga thì đảm bảo rằng ngọn lửa không cao quá mức chất lỏng để tránh làm hao hụt nito.

### **7.4 Chưng cất và chuẩn độ**

Để nguội lượng chứa trong bình rồi tráng bầu thủy tinh hình quả lê và phía trong cổ bình bằng vài mililit nước, để cho nước tráng chảy vào bình. Cẩn thận thêm từ 50 ml đến 200 ml nước (tùy vào thiết bị được sử dụng) trong khi vẫn xoay để trộn lượng chứa trong bình. Nối bình với thiết bị chưng cất hoặc thiết bị chưng cất bằng hơi nước (6.3), trước đó đã được làm sạch amoniac bằng hơi nước.

Chỉnh đầu dưới của bộ sinh hàn sao cho vừa chạm đáy của bình nón 500 ml có chứa sẵn một lượng đã biết của dung dịch axit boric (5.3) (dao động từ 25 ml đến 50 ml) rồi thêm 3 giọt đến 5 giọt chất chỉ thị màu (5.6). Kiểm hóa chất lỏng phân hủy bằng cách thêm từ từ 150 ml đến 200 ml dung dịch natri hydroxit (5.2) qua phễu chiết chia vạch (xem 6.3) được đặt trong cổ bình, đảm bảo rằng cuống phễu không được rỗng. Trộn đều, mở nước của bình sinh hàn rồi bắt đầu đun; amoni bắt đầu được lôi cuốn.

Chất chỉ thị đựng trong bình chuyển ngay sang màu kiềm.

Trong quá trình chưng cất, đảm bảo ổn định lượng hơi nước sinh ra. Kết thúc chưng cất khi thu được 200 ml dịch lỏng trong thời gian từ 20 min đến 30 min.

Ngắt nguồn nhiệt và hạ thấp bình nón. Để cho bình sinh hàn chảy nhỏ giọt vào bình nón trong vài phút rồi tráng đầu tip của bình sinh hàn bằng nước, thu lấy nước tráng vào bình nón. Thêm nước đến vạch bằng nước và trộn.

Dịch lỏng đựng trong bình phải có màu xanh lá cây.

Chuẩn độ lượng chứa trong bình bằng dung dịch axit sulfuric 0,01 M (0,02 N) hoặc 0,05 M (0,1 N), dùng buret 10 ml hoặc 25 ml (6.4) khi thích hợp, cho đến khi màu chuyển sang tím đỏ.

### **7.5 Số lần xác định**

Tiến hành hai phép xác định trên cùng một mẫu thử (7.1).

## 7.6 Phép thử trắng

Chỉ tiến hành phép thử trắng trên thuốc thử. Nếu phần mẫu thử đã được cân đưng trong vật chứa có sinh nitor (xem 7.2), thì tiến hành phép thử trắng, sử dụng cùng một loại vật chứa.

## 7.7 Phép thử kiểm tra

Tiến hành các phép thử kiểm tra theo qui định trong TCVN 10034 (ISO 1871).

## 8 Biểu thị kết quả

Tính hàm lượng nitor, biểu thị bằng phần trăm khối lượng, theo công thức sau:

$$0,014\ 01 \times T \times (V_1 - V_0) \times \frac{100}{m}$$

$$= \frac{1,401 T (V_1 - V_0)}{m}$$

Trong đó:

- $T$  là độ chuẩn của dung dịch axit sulfuric (5.5) được dùng trong hai lần chuẩn độ;
- $V_0$  là thể tích của dung dịch axit sulfuric được dùng trong phép thử trắng (7.6), tính bằng mililít (ml);
- $V_1$  là thể tích của dung dịch axit sulphuric được dùng trong phép xác định (7.4), tính bằng mililít (ml);
- $m$  là khối lượng của phần mẫu thử (7.2), tính bằng gam (g).

Biểu thị kết quả là trung bình cộng của hai phép xác định nếu các thể tích của dung dịch axit sulfuric được dùng không chênh lệch quá 0,1 ml. Nếu không, thì lặp lại phép xác định trên cùng một mẫu thử.

## 9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ rõ phương pháp đã sử dụng và kết quả thử nghiệm thu được. Ngoài ra, báo cáo thử nghiệm cũng đề cập đến mọi chi tiết 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.

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

**Thư mục tài liệu tham khảo**

[1] TCVN 2230 (ISO 565) *Sàng thử nghiệm - Lưới kim loại đan, tấm kim loại đột lỗ và lưới đột lỗ bằng điện - Kích thước lỗ danh nghĩa.*

---