

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 8175:2013**

**ISO 2962:2010**

Xuất bản lần 2

**PHOMAT VÀ SẢN PHẨM PHOMAT CHẾ BIẾN –  
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PHOSPHO TỔNG SỐ -  
PHƯƠNG PHÁP ĐO PHỔ HẤP THỤ PHÂN TỬ**

*Cheese and processed cheese products – Determination  
of total phosphorus content - Molecular absorption spectrometric method*

**HÀ NỘI - 2013**

### **Lời nói đầu**

TCVN 8175:2013 thay thế TCVN 8175:2009;

TCVN 8175:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 2962:2010;

TCVN 8175:2013 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 sản phẩm phomat chế biến - Xác định hàm lượng phospho tổng số - Phương pháp đo phổ hấp thụ phân tử

*Cheese and processed cheese products - Determination of total phosphorus content -*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng phospho tổng số trong phomat bằng đo phổ hấp thụ phân tử. Phương pháp này có thể áp dụng cho tất cả các loại phomat và sản phẩm phomat chế biến.

### 2 Thuật ngữ và định nghĩa

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

#### 2.1

**Hàm lượng phospho tổng số trong phomat và sản phẩm phomat chế biến (total phosphorus content in cheese and processed cheese products)**

Phần khối lượng của các chất xác định được bằng phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH: Hàm lượng phospho tổng số biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

### 3 Nguyên tắc

Phân hủy mẫu phomat bằng axit sulfuric đậm đặc và hydro peroxit.

Bổ sung dung dịch natri molybdat-axit ascorbic để tạo thành xanh molybden. Đo phổ hấp thụ phân tử của dung dịch màu xanh tạo thành ở bước sóng 820 nm.

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng phương pháp tro hóa khô với điều kiện là quy trình này cho cùng kết quả như phân hủy ướt.

#### **4 Thuốc thử**

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước cất, nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, không chứa các hợp chất phospho.

**4.1 Axit sulfuric đậm đặc ( $H_2SO_4$ ),  $\rho_{20} = 1,84$  g/ml.**

**4.2 Hydro peroxit, dung dịch chứa khoảng 30 g  $H_2O_2$  trong 100 ml.**

**4.3 Dung dịch molybdat-axit ascorbic**

**4.3.1 Dung dịch natri molybdat**

Hòa tan 12,5 g natri molybdat ngậm hai phân tử nước ( $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ ) trong dung dịch axit sulfuric 5 mol/l, pha loãng bằng dung dịch axit sulfuric đến 500 ml và trộn.

**4.3.2 Dung dịch axit ascorbic**

Hòa tan 10 g axit ascorbic ( $C_6H_8O_6$ ) trong nước và thêm nước đến 200 ml và trộn.

Dung dịch này không bảo quản được và phải chuẩn bị ngay trước khi sử dụng.

**4.3.3 Dung dịch hỗn hợp**

Ngay trước khi sử dụng, trộn 25 ml dung dịch natri molybdat (4.3.1) với 10 ml dung dịch axit ascorbic (4.3.2), pha loãng bằng nước đến 100 ml và trộn.

**4.4 Phospho, dung dịch chuẩn tương ứng với 100  $\mu g$  P/ml.**

Làm khô khoảng 1 g kali dihydronorthophosphat ( $KH_2PO_4$ ) trong bình hút ẩm có chứa chất hút ẩm hiệu quả ít nhất 48 h, ví dụ: axit sulfuric đậm đặc.

Hòa tan trong nước 0,4394 g phosphat đã làm khô trước, thêm nước đến 1 000 ml và trộn.

#### **5 Thiết bị, dụng cụ**

**ĐIỀU QUAN TRỌNG - Tất cả các dụng cụ thủy tinh phải được làm sạch kỹ bằng chất tẩy rửa không chứa phospho và tráng rửa bằng nước.**

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

**5.1 Cân phân tích.**

**5.2 Dụng cụ xay hoặc nghiền phomat, để làm sạch.**

### 5.3 Nồi cách thủy.

5.4 Bình phân hủy (bình Kjeldahl hoặc ống phân hủy), dung tích 25 ml.

### 5.5 Thiết bị gia nhiệt.

5.5.1 Đầu đốt khí cỡ nhỏ hoặc lò gia nhiệt bằng điện, để làm nóng bình Kjeldahl.

5.5.2 Bộ đốt, để đốt các ống phân hủy.

### 5.6 Bi thủy tinh.

5.7 Ống đong, dung tích 5 ml và 25 ml, phù hợp với loại A của TCVN 8488 (ISO 4788) <sup>[5]</sup>.

5.8 Bình định mức một vạch, dung tích 50 ml và 100 ml, phù hợp với loại B của TCVN 7153 (ISO 1042) <sup>[4]</sup>.

5.9 Pipet, dung tích 1 ml, 2 ml, 3 ml, 5 ml và 10 ml, phù hợp với loại B của TCVN 7151 (ISO 648) <sup>[1]</sup> hoặc TCVN 7150 (ISO 835) <sup>[3]</sup>.

5.10 Máy đo phổ, thích hợp để đo ở bước sóng 820 nm, được trang bị các cuvet có chiều dài đường quang 10 mm.

## 6 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không được quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707) <sup>[2]</sup>.

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

## 7 Chuẩn bị mẫu thử

Loại bỏ cùi, các vết bẩn hoặc lớp bề mặt mốc của phomat, sao cho thu được mẫu phomat ăn được. Nghiền hoặc xay mẫu thử bằng dụng cụ nghiền hoặc xay (5.2) thích hợp. Trộn nhanh mẫu đã nghiền hoặc đã xay, nghiền hoặc xay lần thứ hai và trộn kỹ lại, nếu cần. Nếu mẫu không thể nghiền hoặc xay được thì trộn kỹ bằng dao và khuấy trộn mạnh.

Chuyển mẫu thử sang vật chứa kín khí cho đến khi phân tích, tiến hành phân tích càng sớm càng tốt ngay sau khi nghiền hoặc xay mẫu. Nếu chưa thể thực hiện được ngay thì phải chú ý bảo quản mẫu đúng-cách và tránh làm ngưng tụ hơi nước phía trong của vật chứa.

Rửa sạch dụng cụ nghiền sau mỗi lần nghiền hoặc xay mẫu.

## **8 Cách tiến hành**

### **8.1 Phân mẫu thử**

Cân từ 0,5 g đến 1,0 g mẫu thử, chính xác đến 1 mg, cho vào bình phân hủy (5.4).

Nếu hàm lượng nước của phomat ít hơn 50 % khối lượng thì dùng khoảng 0,5 g mẫu thử là đủ. Đối với phomat tươi thì có thể lấy khoảng 1,0 g mẫu thử.

### **8.2 Xác định**

**8.2.1** Thêm ba viên bi thủy tinh và 4 ml axit sulfuric đậm đặc (4.1) vào bình phân hủy và đun nóng bình phân hủy trong tủ hút khói tốt. Phải đặt bình Kjeldahl ở tư thế nghiêng.

Chỉnh độ cao của ngọn lửa để hạn chế việc tạo bọt trong bình định mức. Cho phép bọt dâng đến cổ bình nhưng không được tràn ra ngoài.

Giữ cho hỗn hợp sôi nhẹ. Tránh làm quá nhiệt cục bộ và tránh làm quá nóng phần trên mặt chất lỏng đựng trong bình.

**8.2.2** Ngay sau khi ngừng tạo bọt, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Cẩn thận cho thêm vài giọt dung dịch hydro peroxit (4.2) và đun nóng lại, lặp lại quy trình này cho đến khi dung dịch chứa trong bình trở nên trong suốt và không màu. Trong quá trình đun nóng, luôn xoay bình cẩn thận để trộn. Tránh quá nóng cục bộ.

**8.2.3** Tráng cổ bình bằng khoảng 2 ml nước và làm nóng bình cho đến khi nước bay hơi hết.

Sau khi màu biến mất, cho chất lỏng sôi 30 min để phá hủy hết các vết hydro peroxit. Tránh quá nóng cục bộ.

**8.2.4** Làm nguội đến nhiệt độ phòng. Chuyển định lượng chất lỏng sang bình định mức một vạch dung tích 100 ml (5.8). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

**8.2.5** Dùng pipet (5.9) lấy 1 ml dung dịch cho vào bình định mức một vạch 50 ml (5.8) và pha loãng với khoảng 25 ml nước. Thêm 20 ml dung dịch molybdat-axit ascorbic (4.3.3). Thêm nước đến vạch và trộn kỹ.

**8.2.6** Đun nóng bình định mức 15 min trong nồi cách thủy đun sôi (5.3).

**8.2.7** Làm nguội đến nhiệt độ phòng trong nồi cách thủy (5.3). Đo độ hấp thụ của dung dịch dựa vào dung dịch thử trắng (xem 8.4) ở bước sóng 820 nm trong vòng 1 h.

### 8.3 Đường chuẩn

8.3.1 Dùng pipet (5.9) lấy 10 ml dung dịch chuẩn phospho (4.4) cho vào bình định mức một vạch dung tích 100 ml (5.8). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

8.3.2 Dùng pipet lấy tương ứng 0 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml và 5 ml dung dịch chuẩn đã pha loãng (8.3.1) cho vào một dãy năm bình định mức một vạch dung tích 50 ml (5.8), nghĩa là tương đương với 0 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg và 50 µg P tương ứng. Pha loãng hàm lượng trong mỗi bình bằng nước đến khoảng 20 ml.

8.3.3 Thêm vào mỗi bình định mức 20 ml dung dịch molybdat-axit ascorbic (4.3.3). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn kỹ.

Tiến hành theo 8.2.6.

8.3.4 Làm nguội bình đến nhiệt độ phòng trong nước lạnh. Đo độ hấp thụ của từng dung dịch chuẩn dựa vào nước để so sánh ở bước sóng 820 nm trong vòng 1 h.

8.3.5 Dụng đồ thị về các độ hấp thụ đo được dựa vào các lượng phospho đã bổ sung.

### 8.4 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng theo quy trình quy định trong 8.2 nhưng không sử dụng phần mẫu thử.

## 9 Tính kết quả

Tính hàm lượng phospho tổng số,  $w_P$  theo phần trăm khối lượng, bằng công thức sau:

$$w_P = \frac{m_1}{100 m_0}$$

Trong đó:

$m_0$  là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam (g);

$m_1$  là khối lượng của phospho đọc được từ đường chuẩn (hoặc tính được từ đường hồi quy thu được bằng phương pháp bình phương nhỏ nhất), tính bằng microgam (µg).

Biểu thị các kết quả thu được đến hai chữ số thập phân.

## 10 Độ chụm

### 10.1 Độ lặp lại

Chênh lệch giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ thu được trên vật liệu thử giống hệt nhau do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn, không quá một

## **TCVN 8175:2013**

trong 20 trường hợp thao tác đúng phương pháp, vượt quá 0,03 g phospho trên 100 g sản phẩm tính theo trung bình.

### **10.2 Độ tái lập**

Chênh lệch giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ và độc lập, thu được do hai người thực hiện trong các phòng thử nghiệm khác nhau, trên vật liệu thử giống hệt nhau, không quá một trong 20 trường hợp thao tác đúng phương pháp, vượt quá 0,06 g phospho trên 100 g sản phẩm tính theo trung bình.

## **11 Báo cáo thử nghiệm**

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- 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) mọi thao tác chi tiết không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được coi 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) nếu kiểm tra độ lặp lại thì ghi kết quả cuối cùng thu được.



**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] TCVN 7151 (ISO 648), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet*
  - [2] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu*
  - [3] TCVN 7150 (ISO 835), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet chia độ*
  - [4] TCVN 7153 (ISO 1042), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức*
  - [5] TCVN 8488 (ISO 4788), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Ống đong chia độ.*
-