

TCVN TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8801:2011

Xuất bản lần 1

**NGŨ CỐC VÀ ĐẬU ĐỖ – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
NITƠ PROTEIN VÀ NITƠ PHI PROTEIN**

*Cereals and pulses –
Determination of protein-nitrogen and non protein-nitrogen contents*

HÀ NỘI – 2011

Lời nói đầu

TCVN 8801:2011 được chuyển đổi từ 10 TCN 593:2004 thành tiêu chuẩn quốc gia theo quy định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 7 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ Quy định chi tiết thi hành một số điều luật của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật;

TCVN 8801:2011 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn 10TC-02 *Ngũ cốc và đậu đỗ* (Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn) biên soạn, Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Ngũ cốc và đậu đỗ –

Xác định hàm lượng nitơ protein và nitơ phi protein

Cereals and pulses – Determination of protein-nitrogen and non protein-nitrogen contents

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng nitơ protein và nitơ phi protein trong ngũ cốc và đậu đỗ.

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 8125:2009 (ISO 20483:2006), *Ngũ cốc và đậu đỗ – Xác định hàm lượng nitơ và tính hàm lượng protein thô – Phương pháp Kjeldahl*.

3 Nguyên tắc

Kết tủa protein trong mẫu thử bằng dung dịch axit tricloaxetic. Rửa kết tủa để loại hết các hợp chất nitơ phi protein và đem vô cơ hoá bằng axit sunfuric đậm đặc với sự có mặt của hỗn hợp xúc tác. Tiến hành xác định hàm lượng nitơ protein trong kết tủa theo phương pháp Kjeldahl.

Hàm lượng nitơ phi protein được tính gián tiếp bằng cách lấy hàm lượng nitơ tổng số trừ đi hàm lượng nitơ protein hoặc xác định nitơ phi protein một cách trực tiếp bằng cách đem vô cơ hoá phần nước lọc sau khi tách kết tủa protein và xác định theo phương pháp Kjeldahl.

4 Thuốc thử

Tất cả thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích không chứa nitơ, ngoại trừ các chất chuẩn và sử dụng nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác. Sử dụng các thuốc thử qui định được nêu trong TCVN 8125:2009 (ISO 20483:2006) và thuốc thử sau:

4.1 Dung dịch axit tricloaxetic (CCl_3COOH) nồng độ 2 %, 20 % và 50 % (khối lượng).

5 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường cùng với các thiết bị, dụng cụ qui định được nêu trong TCVN 8125:2009 (ISO 20483:2006) và cụ thể như sau:

5.1 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,001 g.

5.2 Máy nghiền mẫu, có khả năng nghiền mẫu thử lọt qua sàng có đường kính lỗ 0,5 mm.

5.3 Sàng, có đường kính lỗ sàng 0,5 mm.

5.4 Nồi cách thủy, có bộ điều khiển nhiệt tự động.

5.5 Bình định mức, dung tích 100 ml.

5.6 Cốc thủy tinh chịu nhiệt, có dung tích 150 ml, 200 ml.

5.7 Bình nón, dung tích 150 ml, 250 ml.

5.8 Đũa thủy tinh.

5.9 Giấy lọc định lượng, không chứa nitơ.

5.10 Hộp đựng mẫu, có nắp đậy kín.

6 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thí nghiệm phải là mẫu đại diện và không bị suy giảm chất lượng hay bị thay đổi trong quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 5451: 2008 (ISO 13690: 1999) [1].

7 Chuẩn bị mẫu thử

Từ mẫu phân tích thu được theo Điều 6, dùng máy nghiền (5.2) nghiền cẩn thận khoảng 50 g mẫu cho đến khi mẫu lọt hoàn toàn qua sàng có đường kính lỗ 0,5 mm (5.3).

Mẫu được bảo quản trong các hộp đựng mẫu khô sạch và có nắp đậy kín (5.10).

8 Xác định nitơ protein

8.1 Cách tiến hành

8.1.1 Trộn thật kỹ mẫu thử đã được chuẩn bị theo Điều 7, cân từ 0,5 g đến 1 g mẫu, chính xác đến 0,001 g cho vào cốc thủy tinh dung tích 150 ml (5.6). Thêm vào cốc từ 30 ml đến 40 ml nước cất. Đun bằng nồi cách thủy (5.4) ở nhiệt độ $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong khoảng 1 h, thỉnh thoảng khuấy đều bằng đũa thủy tinh (5.8).

8.1.2 Sau khi đun nóng, kết tủa ngay protein bằng cách thêm vào 5 ml dung dịch axit tricloaxetic 50 % (4.1), khuấy đều, để yên trong 1 h cho protein kết tủa hoàn toàn.

8.1.3 Tiến hành lọc kết tủa bằng cách rót cẩn thận phần dịch lọc đã lắng trong qua phễu có giấy lọc không chứa nitơ (5.9) vào bình nón dung tích 250 ml (5.7), chú ý không để kết tủa chảy sang phễu lọc. Sau đó cho thêm dung dịch axit tricloaxetic 2 % (4.1) vào phần kết tủa trong cốc, khuấy kỹ, để lắng trong rồi lại rót phần dịch trong sang phễu. Tiến hành rửa kết tủa như trên từ bốn đến năm lần.

8.1.4 Tráng cốc và chuyển cẩn thận toàn bộ kết tủa sang phễu lọc bằng dung dịch axit tricloaxetic 2 % (4.1). Để ráo, cho kết tủa protein cùng giấy lọc vào bình Kjeldahl tiến hành vô cơ hoá mẫu và xác định hàm lượng nitơ theo TCVN 8125:2009 (ISO 20483:2006).

8.1.5 Tiến hành ít nhất hai phép thử đồng thời trên cùng một mẫu thử.

8.1.6 Mẫu trắng tiến hành vô cơ hoá bằng 1 g saccarosa cùng với giấy lọc không chứa nitơ, chưng cất và chuẩn độ như đối với mẫu thử.

8.2 Tính và biểu thị kết quả

Hàm lượng nitơ protein trong mẫu thử, X_1 , được tính toán tương tự như khi xác định nitơ tổng số theo TCVN 8125:2009 như sau:

$$X_1(\%) = \frac{(V_1 - V_0) \times 0,0014}{m} \times 100$$

Trong đó:

V_0 là thể tích của dung dịch axit sunfuric 0,05 mol/l dung để chuẩn độ trong phép thử trắng, tính bằng mililit (ml);

V_1 là thể tích của dung dịch axit sunfuric 0,05 mol/l dung để chuẩn độ cho mẫu thử, tính bằng mililit (ml);

TCVN 8801:2011

0,0014 là lượng nitơ tương đương với việc sử dụng 1 ml dung dịch axit sunfuric 0,05 mol/l, tính bằng gam (g);

m là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

Kết quả của phép thử là trung bình cộng của hai lần xác định song song trên cùng một mẫu thử khi sự sai khác của chúng không vượt quá 0,5 % giá trị trung bình.

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

9 Xác định nitơ phi protein

9.1 Phương pháp trực tiếp

9.1.1 Cách tiến hành

Trộn thật kỹ mẫu thử đã được chuẩn bị theo Điều 7, cân khoảng 2 g mẫu, chính xác đến 0,001 g cho vào bình định mức 100 ml (5.5), thêm khoảng 50 ml nước cất, đun cách thủy ở nhiệt độ $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong khoảng 1 h, thỉnh thoảng khuấy đều bằng đũa thủy tinh (5.8).

Sau khi đun, kết tủa ngay protein bằng cách thêm 20 ml dung dịch axit tricloaxetic 20 % (4.1), lắc mạnh trong 2 min, để yên trong 30 min. Thêm nước cất đến vạch, lắc đều, để lắng trong rồi lọc qua giấy lọc không chứa nitơ (5.8) vào bình nón dung tích 150 ml (5.7).

Dùng pipet hút chính xác từ 10 ml đến 20 ml dịch lọc có chứa nitơ phi protein cho vào bình Kjeldahl và tiến hành vô cơ hóa mẫu, lúc đầu ở nhiệt độ thấp để tránh trào bọt (có thể thêm chất chống tạo bọt như dầu parafin), sau đó tăng nhiệt độ đến khi dịch trong bình trong suốt, có màu xanh nhạt. Tiến hành chưng cất, chuẩn độ như khi xác định hàm lượng nitơ tổng số theo TCVN 8125:2009 (ISO 20483:2006).

Mẫu trắng: tiến hành vô cơ hoá bằng 1 g saccarozơ cùng với giấy lọc không chứa nitơ, chưng cất và chuẩn độ như đối với mẫu thử.

9.1.2 Tính và biểu thị kết quả

Hàm lượng nitơ phi protein trong mẫu thử, X_2 , được tính toán tương tự như khi xác định nitơ tổng số theo TCVN 8125:2009, như sau:

$$X_2(\%) = \frac{(V - V_0) \times 0,0014 \times 100}{m \times V_n} \times 100$$

Trong đó:

V_0 là thể tích của dung dịch axit sunfuric 0,05 mol/l dùng để chuẩn độ trong phép thử trắng, tính bằng mililit (ml);

V là thể tích của dung dịch axit sunfuric 0,05 mol/l dùng để chuẩn độ cho mẫu thử, tính bằng mililit (ml);

0,0014 là lượng nitơ tương đương với việc sử dụng 1 ml dung dịch axit sunfuric 0,05 mol/l, tính bằng gam (g);

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

V_h là thể tích dịch lọc sử dụng để vô cơ hóa, tính bằng mililit (ml)

Kết quả của phép thử là trung bình cộng của hai lần xác định song song trên cùng một mẫu thử khi sự sai khác của chúng không vượt quá 0,5 % giá trị trung bình.

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

9.2 Phương pháp gián tiếp

Trong trường hợp khi đã xác định hàm lượng nitơ tổng số và hàm lượng nitơ protein (theo 8.1) trên cùng một mẫu thử và với cùng một thiết bị kiểm tra thì có thể tính hàm lượng nitơ phi protein bằng cách lấy hàm lượng nitơ tổng số được xác định bằng phương pháp qui định trong TCVN 8125:2009 (ISO 20483:2006) trừ đi hàm lượng nitơ protein.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để xác định toàn diện về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các chi tiết về thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thu được.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 5451: 2008 (ISO 13690: 1999), *Ngũ cốc, đậu đỗ và sản phẩm bột nghiền – Lấy mẫu từ khối hàng tĩnh.*
- [2] 10 TCN 593:2004, *Ngũ cốc và đậu đỗ – Phương pháp xác định nitơ protein và nitơ phi protein.*
-