

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7085:2011

ISO 5764:2009

Xuất bản lần 3

**SỮA – XÁC ĐỊNH ĐIỂM ĐÓNG BĂNG –
PHƯƠNG PHÁP ĐO NHIỆT ĐỘ ĐÔNG LẠNH
BẰNG ĐIỆN TRỞ NHIỆT (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

*Milk – Determination of freezing point – Thermistor cryoscope method
(Reference method)*

HÀ NỘI – 2011

Lời nói đầu

TCVN 7085:2011 thay thế TCVN 7085:2007;

TCVN 7085:2011 hoàn toàn tương đương với ISO 5764:2009/IDF 108:2009;

TCVN 7085:2011 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 đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Sữa - Xác định điểm đóng băng - Phương pháp đo nhiệt độ đông lạnh bằng điện trở nhiệt (Phương pháp chuẩn)

*Milk – Determination of freezing point – Thermistor cryoscope method
(Reference method)*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp chuẩn để xác định điểm đóng băng của sữa bò nguyên liệu, sữa đã tách một phần chất béo và sữa gầy đã qua xử lý nhiệt, cũng như sữa cừu và sữa dê nguyên liệu bằng cách sử dụng dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh bằng điện trở nhiệt.

Điểm đóng băng có thể được sử dụng để đánh giá tỉ lệ của nước ngoại lai trong sữa. Việc tinh lượng nước ngoại lai được thực hiện hàng ngày và biến động theo mùa nên không thuộc phạm vi của tiêu chuẩn này.

Các kết quả thu được từ các mẫu có độ axit có thể chuẩn độ vượt quá 20 ml dung dịch natri hydroxit 0,1 mol/l tính trên 10 g chất khô không béo sẽ không đại diện cho sữa ban đầu.

CHÚ THÍCH 1 Việc tiệt trùng và thanh trùng bằng chân không có thể ảnh hưởng đến điểm đóng băng của sữa (xem Tài liệu tham khảo [5]).

CHÚ THÍCH 2 Phương pháp này sử dụng các dụng cụ cài đặt thời gian ổn định. Đối với các phép đo thông thường, có thể sử dụng các phương pháp dùng dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh bằng điện trở nhiệt khác, nghĩa là cố định thời gian. Các hướng dẫn áp dụng các quy trình khác được nêu trong Phụ lục C.

CHÚ THÍCH 3 Giá trị giới hạn đưa ra độ axit có thể chuẩn độ nêu trong Điều 1 và 9.2 có thể áp dụng cho sữa bò. Cũng có khả năng các giá trị giới hạn đối với sữa dê và sữa cừu sẽ cao hơn.

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 7085:2011

TCVN 4851 (ISO 3696). *Nước dùng để phân tích trong phòng thử nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.*

TCVN 8079 (ISO 6091). *Sữa bột – Xác định độ axit bằng phương pháp chuẩn độ (Phương pháp chuẩn).*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Điểm đóng băng của sữa (freezing point of milk)

Giá trị nhiệt độ thu được sử dụng phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Điểm đóng băng được biểu thị bằng mili độ Celsius ($^{\circ}\text{C}$)

4 Nguyên tắc

Mẫu sữa được làm lạnh đến nhiệt độ đóng băng thích hợp. Sự kết tinh được thực hiện bằng phương pháp thích hợp để giải phóng nhiệt tức thời đồng thời làm ấm mẫu đến nhiệt độ ổn định. Sự ổn định này đạt được khi nhiệt độ tăng không quá $0,5^{\circ}\text{C}$ trong vòng 20 s trước đó. Nhiệt độ thu được này tương ứng với điểm đóng băng của mẫu thử.

Thiết bị được hiệu chuẩn bằng cách điều chỉnh để có được các số đọc đúng đối với hai dung dịch chuẩn natri clorua, sử dụng cùng một quy trình như đối với các phần mẫu thử của sữa.

5 Thuốc thử

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

5.1 Nước. phù hợp với loại 2 của TCVN 4851 (ISO 3696) hoặc nước có chất lượng tương đương được cất bằng dụng cụ thủy tinh bosilicat.

Nước phải được đun sôi và làm nguội đến $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ngay trước khi sử dụng.

5.2 Natri clorua (NaCl), dạng bột mịn, đã được sấy 5 h trong lò nung bằng điện (6.7) ở $300^{\circ}\text{C} \pm 25^{\circ}\text{C}$ hoặc được sấy trong tủ sấy (6.8) ở $130^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong ít nhất 24 h, sau đó được làm nguội đến nhiệt độ phòng trong bình hút ẩm (6.9).

5.3 Dung dịch chuẩn natri clorua

Chuẩn bị dung dịch chuẩn natri clorua theo gam trên kilogam (xem Bảng 1, cột thứ nhất), tốt nhất bằng cách cân một lượng thích hợp natri clorua khô đã chuẩn bị (5.2), chính xác đến 0,1 mg và hoà tan

trong 1 000 g \pm 0,1 g nước (5.1). Bảo quản các dung dịch chuẩn này ở khoảng 5 °C trong các chai bằng polyetylen có nắp đậy kín (6.10) có dung tích không quá 250 ml.

Cách khác, cân một lượng thích hợp (xem Bảng 1, cột thứ hai) natri clorua khô đã chuẩn bị (5.2) trong bình cân, chính xác đến 0,1 mg. Hòa tan bằng nước (5.1) và chuyển định lượng sang bình định mức một vạch dung tích 1000 ml (6.6). Pha loãng bằng nước (5.1) đến vạch 1000 ml ở nhiệt độ 20 °C \pm 2 °C và trộn.

Bảng 1 – Điểm đóng băng của các dung dịch chuẩn natri clorua

Dung dịch NaCl g/kg	Dung dịch NaCl ở 20 °C g/l	Điểm đóng băng m°C
6,763	6,731	- 400,0
6,901	6,868	- 408,0
7,625	7,587	- 450,0
8,489	8,444	- 500,0
8,662	8,615	- 510,0
8,697	8,650	- 512,0
8,835	8,787	- 520,0
9,008	8,959	- 530,0
9,181	9,130	- 540,0
9,354	9,302	- 550,0
9,475	9,422	- 557,0
10,220	10,161	- 600,0

Trước khi sử dụng dung dịch chuẩn, đảo chiều nhẹ nhàng và xoay chai đựng vài lần để trộn kĩ dung dịch bên trong.

Không khuấy trộn mạnh dung dịch chuẩn ở bất kì thời điểm nào, vì có thể làm lẫn không khí. Rót các mẫu của dung dịch chuẩn ra khỏi các chai mà không dùng pipet. Không sử dụng các dung dịch chuẩn trong chai còn lại ít hơn một phần tư hoặc quá hai tháng hoặc chai có chứa các nấm mốc nhìn thấy được.

Chỉ sử dụng các dung dịch chuẩn natri clorua không chứa chất bảo quản cho phương pháp chuẩn này. Đối với các phương pháp thông dụng, có thể sử dụng các dung dịch chuẩn natri clorua có chất kháng nấm hoặc diệt nấm. Xem hướng dẫn ở Phụ lục C.

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 Dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh, gồm dụng cụ làm lạnh kiểm soát được nhiệt độ ổn định, đầu dò điện trở nhiệt được gắn với mạch liên kết và dụng cụ hiển thị, bộ khuấy trộn mẫu và dụng cụ tạo tinh thể (xem Hình 1).

6.1.1 Dụng cụ làm lạnh

Có thể sử dụng một vài loại dụng cụ làm lạnh kiểm soát được nhiệt độ, ví dụ:

- a) loại nhúng: bể làm lạnh có dung tích đệm thích hợp;
- b) loại tuần hoàn: hơi của chất lỏng làm lạnh lưu thông liên tục quanh ống đựng mẫu.
- c) loại làm lạnh bằng khối: khối làm lạnh với lượng nhỏ chất lỏng làm lạnh.

Sau khi bắt đầu làm đông lạnh, giữ ổn định nhiệt độ của chất lỏng làm lạnh bao quanh ống đựng mẫu ở nhiệt độ $-7,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

CHÚ THÍCH Chất lỏng làm lạnh thích hợp là dung dịch propylen glycol 33 % (thể tích).

6.1.2 Dụng cụ đo, mạch liên kết và dụng cụ hiển thị

Điện trở nhiệt phải là loại đầu dò thủy tinh, có đường kính $1,60\text{ mm} \pm 0,4\text{ mm}$ và có điện trở từ $3\ \Omega$ đến $30\ \text{k}\Omega$ ở $0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Kiểu loại và kích thước của vật liệu cột (bao gồm cả bộ lọc) không cho phép truyền nhiệt sang mẫu lớn hơn $2,5 \times 10^{-3}\text{ J/s}$, dưới các điều kiện thao tác.

Khi đầu dò đã ở vị trí đo thì đầu hạt của điện trở nhiệt phải nằm trên trục của ống đựng mẫu và ở vị trí có các khoảng cách đến thành trong của ống và đến đáy trong của ống bằng nhau (xem Hình 1).

Điện trở nhiệt và mạch liên kết phải cho thấy sự phân biệt nhiệt độ bằng hoặc lớn hơn $1\text{ m}^{\circ}\text{C}$ trên dải nhiệt độ từ $-400\text{ m}^{\circ}\text{C}$ đến $-600\text{ m}^{\circ}\text{C}$.

Độ tuyến tính của mạch không được có sai số lớn hơn $1\text{ m}^{\circ}\text{C}$ tại bất kỳ điểm nào trong dải từ $-400\text{ m}^{\circ}\text{C}$ đến $-600\text{ m}^{\circ}\text{C}$ khi dụng cụ được thao tác đúng.

Dụng cụ hiển thị phải cho thấy sự phân biệt nhiệt độ bằng hoặc lớn hơn $1\text{ m}^{\circ}\text{C}$ trên dải nhiệt độ ít nhất từ $0\text{ m}^{\circ}\text{C}$ đến $-1\ 000\text{ m}^{\circ}\text{C}$.

6.1.3 Que khuấy, trơ với sữa, để khuấy phần mẫu thử trong suốt quá trình làm lạnh.

Que khuấy phải điều chỉnh được về biên độ và được dựng thẳng đứng theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Que khuấy phải chuyển động một bên với biên độ 2 mm đến 3 mm để đảm bảo nhiệt độ trong phần mẫu thử không thay đổi trong suốt quá trình làm lạnh. Trong quá trình thao tác bình thường không để que khuấy chạm vào đầu dò điện trở nhiệt hoặc chạm vào thành ống.

6.1.4 Dụng cụ làm đóng băng ban đầu, bất kì dụng cụ nào khi thao tác mà làm đóng băng tức thời phần mẫu thử khi đạt đến $-3,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Dùng que khuấy (6.1.3) cho mục đích này. Có một phương pháp để tăng biên độ giao động lên 1 s đến 2 s, sao cho que khuấy chạm vào thành của ống đựng mẫu (6.2).

6.2 Ống mẫu, đối xứng, được làm bằng thủy tinh bosilicat và có chiều dài $50,5\text{ mm} \pm 0,2\text{ mm}$, đường kính ngoài $16,0\text{ mm} \pm 0,2\text{ mm}$ và đường kính trong $13,7\text{ mm} \pm 0,3\text{ mm}$ (xem Hình 1).

Độ dày dọc thành ống chênh lệch nhau không quá 0,1 mm.

Các ống phải có hình dạng giống nhau sao cho các điểm đóng băng thu được là bằng nhau đối với các thể tích dung dịch mẫu như nhau. Kiểm tra sự bằng nhau trước khi sử dụng các ống.

6.3 Nguồn năng lượng chính, có thể thực hiện theo quy định của nhà sản xuất.

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

6.5 Bình cân.

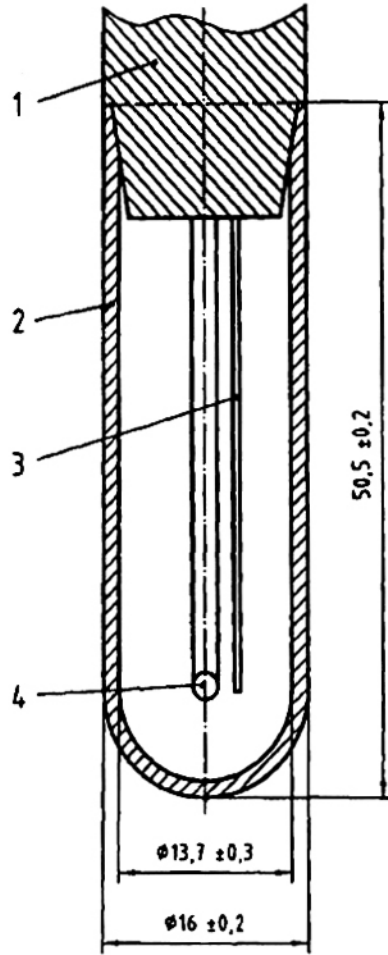
6.6 Bình định mức một vạch, dung tích 1 000 ml, phù hợp với loại A của TCVN 7153 (ISO 1042)^[2].

6.7 Lò nung bằng điện, có thể duy trì được ở $300\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; hoặc

6.8 Tủ sấy, có thể duy trì được ở $130\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

6.9 Bình hút ẩm, có chứa silica gel và dụng cụ đo độ ẩm.

6.10 Chai polyetylen, dung tích tối đa 250 ml, có nắp đậy thích hợp.

**CHÚ ĐÃN**

- | | |
|-----------|--------------------------|
| 1 Trục | 3 Que khuấy |
| 2 Ống mẫu | 4 Đầu hạt điện trở nhiệt |

Hình 1 – Chi tiết về ống đựng mẫu, đầu dò điện trở nhiệt và que khuấy

7 Lấy mẫu

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

Điều quan trọng là 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.

Tốt nhất là thử nghiệm mẫu ngay khi đưa đến phòng thử nghiệm. Mẫu phải đại diện, mẫu sữa tươi nguyên liệu phải được bảo quản ở 0 °C đến 6 °C đến 48 h sau khi lấy mẫu. Đối với mẫu sữa đã xử lý thì phải nằm trong hạn sử dụng.

8 Hiệu chuẩn dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh bằng điện trở nhiệt

Đảm bảo rằng dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh (6.1) trong tình trạng làm việc tốt phù hợp với các chỉ dẫn của nhà sản xuất. Kiểm tra vị trí của đầu dò, biên độ dao động của que khuấy và nhiệt độ của dụng cụ làm lạnh (6.1.1).

Chọn hai dung dịch chuẩn natri clorua (xem Bảng 1) có điểm đông lạnh gần với điểm đóng băng dự kiến của sữa cần thử nghiệm. Chênh lệch giữa hai điểm đóng băng của hai dung dịch chuẩn natri clorua đã chọn không được nhỏ hơn 100 m°C. Đảm bảo rằng các nhiệt độ của các dung dịch chuẩn natri clorua đã chọn và của mẫu thử là giống nhau.

Rót 2,5 ml ± 0,1 ml dung dịch chuẩn natri clorua vào ống đựng mẫu (6.2) khô, sạch và hiệu chuẩn thiết bị theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Sử dụng các ống đựng mẫu (6.2) có cùng kiểu như đã được sử dụng trong suốt quá trình thử mẫu. Sau đó chuẩn bị sẵn sàng dụng cụ đo bằng điện trở nhiệt để sử dụng.

9 Chuẩn bị mẫu thử

9.1 Chuẩn bị

Nếu cần, loại bỏ hết các chất lạ nhìn thấy hoặc butterfat rắn ra khỏi mẫu thử bằng cách lọc sang một bình khô, sạch. Trộn mẫu nhẹ nhàng. Dùng một bộ lọc trợ với sữa và thích hợp khi được sử dụng ở nhiệt độ phòng thử nghiệm.

Kiểm tra các mẫu ở nhiệt độ bảo quản hoặc sau khi đạt đến nhiệt độ phòng thử nghiệm trước khi bắt đầu phép xác định. Nhiệt độ của các mẫu thử và các dung dịch chuẩn natri clorua cần phải như nhau khi bắt đầu tiến hành xác định (xem thêm Điều 8).

9.2 Tình trạng mẫu

Nếu còn nghi ngờ về tình trạng mẫu thì xác định độ axit chuẩn độ của mẫu thử bằng phương pháp quy định trong TCVN 8079 (ISO 6091) cùng với thời điểm xác định điểm đóng băng.

Các kết quả thu được từ các mẫu thử có độ axit chuẩn độ mà vượt quá 20 ml dung dịch natri hydroxit 0.1 mol/l trên 10 g chất khô không chứa chất béo thì sẽ không đại diện cho mẫu sữa ban đầu (xem Chú thích 3 trong Điều 1).

10 Cách tiến hành

10.1 Kiểm tra ban đầu

Tiến hành kiểm tra thiết bị ban đầu theo các chỉ dẫn của nhà sản xuất.

10.2 Kiểm tra hiệu chuẩn hàng ngày

Trước mỗi dãy các phép xác định, đo điểm đóng băng của dung dịch chuẩn natri clorua (5.3) (ví dụ: dung dịch có điểm đóng băng $-512\text{ m}^{\circ}\text{C}$) cho đến khi các giá trị thu được trong hai phép xác định kế tiếp nhau không khác nhau quá $1\text{ m}^{\circ}\text{C}$.

Nếu giá trị trung bình của hai kết quả này khác với điểm đóng băng của dung dịch chuẩn natri clorua quá $2\text{ m}^{\circ}\text{C}$ thì hiệu chuẩn lại dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh như quy định trong Điều 8.

Nếu dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh được sử dụng tiếp thì thực hiện kiểm tra hiệu chuẩn hàng ngày ít nhất mỗi giờ một lần.

10.3 Xác định

Đào chiều nhẹ nhàng và xoay vật chứa mẫu vài lần để trộn đều mẫu, tránh để lẫn không khí.

Dùng pipet chuyển phần mẫu thử $2,5\text{ ml} \pm 0,1\text{ ml}$ của mẫu thử đã chuẩn bị (9.1) sang ống đựng mẫu (6.2) khô, sạch.

Đảm bảo rằng đầu dò và que khuấy (6.1.3) đã sạch và khô. Lau khô cẩn thận bằng giấy mềm, sạch và không xơ, nếu cần.

Cho ống đựng mẫu vào dụng cụ đo nhiệt độ đông lạnh (6.1) đã hiệu chuẩn theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Bắt đầu cho làm lạnh phần mẫu thử và cho đóng băng ban đầu ở $-3,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Điểm cực đại đạt được khi nhiệt độ tăng không quá $0,5\text{ m}^{\circ}\text{C}$ trong 20 s trước đó. Đối với các thiết bị có độ phân giải không hơn $1\text{ m}^{\circ}\text{C}$ thì điểm cực đại đạt được ngay khi nhiệt độ được giữ không đổi trong 20 s. Ghi lại nhiệt độ này.

Nếu vì một lý do nào đó, điểm đóng băng bắt đầu trước khi đạt đến nhiệt độ $-3,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ thì huỷ bỏ phép xác định. Lập lại việc xác định với $2,5\text{ ml}$ phần mẫu thử khác.

Nếu phần mẫu thử thứ hai này cũng đóng băng quá sớm thì làm ấm mẫu thử (hoặc một phần mẫu thử) đựng trong hộp kín ở $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong 5 min để làm tan các chất béo kết tinh. Làm mát mẫu thử (hoặc phần mẫu thử) đã xử lý sơ bộ này đến nhiệt độ phòng thử nghiệm (xem 9.1) và ngay lập tức thử nghiệm lại trên phần mẫu thử $2,5\text{ ml}$.

CHÚ THÍCH Khoảng thời gian mà nhiệt độ giữ ổn định và khoảng thời gian tính từ khi bắt đầu đóng băng đến khi đạt được nhiệt độ cao nhất sẽ khác nhau giữa các mẫu sữa và và dài hơn đáng kể so với nước và các dung dịch chuẩn natri clorua.

Sau mỗi lần xác định, tháo ống đựng mẫu, tráng rửa đầu dò điện trở nhiệt và que khuấy bằng nước. Dùng khăn giấy khô, sạch, mềm, không xơ để lau khô đầu dò điện trở nhiệt.

Nếu cần phải thực hiện phép xác định thứ hai thì thực hiện trên một phần mẫu thử khác. Nếu hai giá trị điểm đóng băng khác nhau quá giá trị lặp lại (xem 12.2) thì loại bỏ các kết quả và thực hiện hai phép xác định liên tiếp trên các phần mẫu thử mới.

11 Tính và biểu thị kết quả

11.1 Tính kết quả

Nếu việc hiệu chuẩn đã được khẳng định bằng kết quả kiểm tra hiệu chuẩn hàng ngày (10.2) thì lấy giá trị kết quả thu được hoặc nếu thực hiện nhiều phép xác định lặp lại thì lấy kết quả trung bình của các giá trị thu được. Nếu việc hiệu chuẩn chưa được khẳng định thì lặp lại quy trình (Điều 10).

11.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả thử của điểm đóng băng đến ba chữ số có nghĩa.

12 Độ chụm

12.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các giá trị về độ lặp lại và độ tái lập thu được từ các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm đối với phương pháp được đưa ra trong Phụ lục A và Phụ lục B.

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 khác với các giá trị đã nêu.

12.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ độc lập, thu được khi sử dụng cùng phương pháp 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:

a) sữa bò: 4 m°C;

b) sữa dê: 4 m°C;

c) sữa cừu: 6 m°C.

TCVN 7085:2011

12.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, do những người phân tích khác nhau thực hiện trong các phòng thử nghiệm khác nhau, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn:

- a) sữa bò: 6 m⁰C;
- b) sữa dê: 9 m⁰C;
- c) sữa cừu: 10 m⁰C.

13 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi điều kiện thao tác 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) độ axit có thể chuẩn độ được, nếu được xác định;
- f) kết quả thử nghiệm thu được và nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Phép thử liên phòng thử nghiệm trên sữa bò

A.1 Yêu cầu chung

Sau nghiên cứu sơ bộ vào tháng 10 năm 1998, một phép thử công tác quốc tế gồm 19 phòng thử nghiệm và 13 nước tham gia đã được thực hiện vào tháng 9 năm 1999. Phép thử đã thực hiện trên 18 mẫu thử, chia thành 36 mẫu mù lặp lại hai lần:

- sáu cặp mẫu sữa gầy đã xử lý bằng UHT ở ba mức khác nhau;
- sáu cặp mẫu sữa nguyên chất đã xử lý bằng UHT ở ba mức khác nhau;
- sáu cặp mẫu sữa nguyên liệu ở ba mức khác nhau.

Phép thử này do Trạm kiểm soát sữa Hà Lan, Zutphen (Hà Lan) và Ban thanh tra Bảo vệ sức khỏe, Leeuwarden (Hà Lan) tổ chức. Các mẫu thử do Cecalait, Polygny (Pháp) chuẩn bị và cung cấp, đã được tiến hành phân tích thống kê phù hợp với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[3] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[4] để cho độ chụm như trong Bảng A.1 đến Bảng A.3.

A.2 Các kết quả thử nghiệm

Bảng A.1 – Các kết quả về sữa gầy đã xử lý bằng UHT

Mẫu	1	2	3	4	5	6	Trung bình tổng ^a
Số phòng thử nghiệm tham gia sau khi trừ ngoại lệ	17	16	17	18	18	17	
Giá trị trung bình, m ^o C	-497,4	-498,8	-512,0	-518,1	-536,1	-539,4	-517,0
Độ lệch chuẩn lặp lại, s _r , m ^o C	1,2	1,0	1,2	1,1	1,2	1,0	1,1
Giới hạn lặp lại, r (=2,8 s _r), m ^o C	3,3	2,9	3,2	3,0	3,3	2,9	3,1
Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r), %	0,23	0,21	0,22	0,21	0,22	0,19	0,21
Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , m ^o C	1,2	1,3	1,2	1,6	1,4	2,0	1,5
Giới hạn tái lập, R (= 2,8 s _R), m ^o C	3,5	3,6	3,3	4,5	4,0	5,6	4,2
Hệ số biến thiên tái lập, CV(R), %	0,25	0,26	0,23	0,31	0,26	0,37	0,29

^a Giá trị trung bình mẫu tổng được tính theo trung bình cân nặng của từng mẫu thu được. Tất cả các trung bình thống kê khác được tính từ căn bậc hai của trung bình độ lệch bình phương.

Bảng A.2 – Các kết quả về sữa nguyên chất đã xử lý bằng UHT

Mẫu	1	2	3	4	5	6	Trung bình tổng ^a
Số phòng thử nghiệm tham gia sau khi trừ ngoại lệ	17	17	17	17	18	18	
Giá trị trung bình, m ^o C	-491,6	-494,7	-512,6	-512,9	-534,8	-534,9	-513,6
Độ lệch chuẩn lặp lại, s, m ^o C	1,2	1,7	2,0	1,1	1,4	1,2	1,5
Giới hạn lặp lại, r (= 2,8 s), m ^o C	3,5	4,7	5,5	3,1	3,9	3,4	4,1
Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r), %	0,25	0,34	0,38	0,22	0,26	0,22	0,28
Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , m ^o C	2,0	2,3	2,7	1,5	2,0	2,3	2,2
Giới hạn tái lập, R (= 2,8 s _R), m ^o C	5,6	6,4	7,7	4,2	5,6	6,4	6,1
Hệ số biến thiên tái lập, CV(R), %	0,41	0,46	0,53	0,29	0,38	0,43	0,42

^a Giá trị trung bình mẫu tổng được tính theo trung bình cân nặng của từng mẫu thu được. Tất cả các trung bình thống kê khác được tính từ cân bậc hai của trung bình độ lệch bình phương.

Bảng A.3 – Các kết quả đối với sữa tươi nguyên liệu

Mẫu	1	2	3	4	5	6	Trung bình tổng ^a
Số phòng thử nghiệm tham gia sau khi trừ ngoại lệ	18	18	18	17	18	17	
Giá trị trung bình, m ^o C	-496,2	-504,9	-518,3	-525,5	-540,0	-548,8	-522,3
Độ lệch chuẩn lặp lại, s _r , m ^o C	1,4	1,3	1,3	1,4	1,3	1,1	1,3
Giới hạn lặp lại, r (= 2,8 s _r), m ^o C	3,8	3,6	3,7	3,8	3,6	3,2	3,6
Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r), %	0,28	0,25	0,26	0,26	0,24	0,21	0,25
Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , m ^o C	2,1	2,5	2,6	2,1	2,2	2,3	2,3
Giới hạn tái lập, R (= 2,8 s _R), m ^o C	5,9	7,0	7,4	6,0	6,2	6,5	6,5
Hệ số biến thiên tái lập, CV(R), %	0,42	0,50	0,51	0,41	0,41	0,42	0,45

^a Giá trị trung bình mẫu tổng được tính theo trung bình cân nặng của từng mẫu thu được. Tất cả các trung bình thống kê khác được tính từ cân bậc hai của trung bình độ lệch bình phương.

Phụ lục B

(Tham khảo)

Phép thử liên phòng thử nghiệm trên sữa cừu và sữa dê nguyên liệu

B.1 Yêu cầu chung

Sau nghiên cứu sơ bộ vào năm 2003, hai phép thử cộng tác quốc tế riêng rẽ trên sữa cừu và sữa dê nguyên liệu gồm 12 phòng thử nghiệm của 11 nước tham gia thực hiện vào tháng 2 năm 2004 và tháng 3 năm 2004, tương ứng [7].

Phép thử đã thực hiện trên sáu mẫu thử cho mỗi loại sữa, chia thành 12 mẫu kép mù và phép thử này do A.I.A Laboratorio Standard Latte, Maccarese-Rome (Italia) và C.M.I.O.C.T. Laboratory, Nicosia (Síp) thực hiện. Các mẫu thử do A.I.A Laboratorio Standard Latte cung cấp và chuẩn bị, được tiến hành phân tích thống kê phù hợp với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[3] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[4] để cho độ chụm nêu trong Bảng B.1 đến Bảng B.2 tương ứng.

B.2 Các kết quả thử nghiệm

Bảng B.1 – Các kết quả thu được đối với sữa cừu nguyên liệu

Mẫu	A	B	C	D	E	F	Trung bình tổng ^a
Số phòng thử nghiệm tham gia sau khi trừ ngoại lệ	7	8	8	8	8	8	
Giá trị trung bình, m ^o C	-533,2	-572,4	-516,5	-490,9	-584,1	-571,9	-544,8
Độ lệch chuẩn lặp lại, s _r , m ^o C	1,6	2,5	0,8	1,7	1,9	3,3	2,1
Giới hạn lặp lại, r (= 2,8 s _r), m ^o C	4,4	6,9	2,2	4,7	5,3	9,2	5,9
Hệ số biến thiên lặp lại, CV(r), %	0,83	1,20	0,43	0,96	0,90	1,61	1,08
Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , m ^o C	3,0	4,4	2,2	3,5	3,6	5,0	3,7
Giới hạn tái lập, R (= 2,8 s _R), m ^o C	8,3	12,3	6,2	9,7	10,1	13,9	10,4
Hệ số biến thiên tái lập, CV(R) %	1,55	2,15	1,21	1,98	1,72	2,43	1,91

^a Giá trị trung bình mẫu tổng được tính theo trung bình của từng mẫu thu được. Tất cả các trung bình thống kê khác được tính từ căn bậc hai của trung bình độ lệch bình phương.

Bảng B.2 – Các kết quả thu được đối với sữa dê nguyên liệu

Mẫu	A	B	C	D	E	F	Trung bình tổng ^a
Số phòng thử nghiệm tham gia sau khi trừ ngoại lệ	8	8	8	8	8	8	
Giá trị trung bình, m°C	- 541,9	- 572,5	- 550,0	- 553,6	-561,5	-596,5	-562,7
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , m°C	0,8	1,0	1,7	1,0	1,8	1,5	1,4
Giới hạn lặp lại, r (= 2,8 s_r), m°C	2,3	2,9	4,8	2,7	5,1	4,3	3,8
Hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r)$, %	0,43	0,50	0,88	0,49	0,91	0,72	0,68
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , m°C	3,5	2,4	3,0	3,4	3,0	3,0	3,1
Giới hạn tái lập, R (= 2,8 s_R), m°C	9,7	6,7	8,5	9,6	8,5	8,3	8,6
Hệ số biến thiên tái lập, $CV(R)$ %	1,78	1,16	1,54	1,73	1,51	1,39	1,52

^a Giá trị trung bình mẫu tổng được tính theo trung bình cân nặng của từng mẫu thu được. Tất cả các trung bình thống kê khác được tính từ căn bậc hai của trung bình độ lệch bình phương.

Phụ lục C

(Tham khảo)

Hướng dẫn áp dụng các phương pháp đo nhiệt độ đông lạnh bằng điện trở nhiệt thông dụng

C.1 Giới thiệu

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp chuẩn sử dụng điện trở nhiệt để xác định điểm đóng băng của sữa. Trong thực tế, các phương pháp sử dụng điện trở nhiệt khác có thể được sử dụng nhiều vì:

- đạt được thời gian thử ngắn hơn, bằng cách ngừng thời điểm đo sớm hơn;
- việc giữ thiết bị đo trong cơ chế vận hành đáp ứng các yêu cầu của phương pháp chuẩn là không thể thực hiện được

Các ví dụ của phương pháp và/hoặc các sai lệch trong sử dụng là:

- ngừng phép đo ở 30 s, 50 s, 60 s hoặc 90 s sau khi bắt đầu đóng băng;
- ngừng phép đo khi thiết bị hiển thị đã cho số đọc ổn định ± 1 m°C trong khoảng 20 s (hoặc trong giới hạn thời gian khác);
- làm việc với các phần của thiết bị có các đặc tính sai lệch;
- sử dụng các thể tích mẫu khác;
- áp dụng các nhiệt độ đóng băng khác.

Khi áp dụng các phương pháp thông dụng, cần hiệu chỉnh các kết quả thử thông dụng để thu được sự thống nhất với kết quả các phép đo chuẩn sử dụng dụng cụ đo điện trở nhiệt. Giá trị hiệu chỉnh cần được xác định đối với từng tình huống có liên quan. Phụ lục này đưa ra hướng dẫn để thiết lập các giá trị hiệu chỉnh.

C.2 Điều kiện tiên quyết

Phương pháp thông dụng được áp dụng cần đáp ứng đầy đủ các yêu cầu sau:

- sử dụng cùng nguyên tắc thử nghiệm, nghĩa là phương pháp dùng điện trở nhiệt;
- đạt được sự phân biệt bằng hoặc lớn hơn 1 m°C trên dải -400 m°C đến -600 m°C;
- có độ tuyến tính không có sai số lớn hơn 1 m°C trong dải -400 m°C đến -600 m°C;

TCVN 7085:2011

- d) ngừng phép đo không sớm hơn 30 s sau khi bắt đầu đông lạnh;
- e) có độ lặp lại không lớn hơn giá trị quy định trong 12.2.

C.3 Xác định giá trị hiệu chỉnh

C.3.1 Yêu cầu chung

Mọi phép hiệu chỉnh cần được xác định thông qua các phép đo so sánh với phương pháp chuẩn và phương pháp thông dụng, sử dụng một lượng đủ mẫu sữa đại diện cần phân tích.

C.3.2 Lấy mẫu và xử lý mẫu

Mẫu được lấy phải đại diện cho sản phẩm cần kiểm tra, nghĩa là bao trùm dải chuẩn trong dao động thành phần và dải giá trị các điểm đóng băng xuất hiện đối với loại mẫu cần kiểm tra. Lấy mẫu và xử lý mẫu theo Điều 7 và Điều 9.

C.3.3 Số lượng mẫu thử

Số lượng mẫu tối thiểu trong phép thử, n , phải sao cho chênh lệch tới hạn không được vượt quá $0,4 \text{ m}^\circ\text{C}$. Tính n bằng công thức sau:

$$n \approx \left(\frac{\sigma_d t_{0,95}}{CD} \right)^2$$

Trong đó:

σ_d là độ lệch chuẩn của các sai lệch giữa các phương pháp đối với các mẫu riêng lẻ;

$t_{0,95}$ là giá trị của sự phân bố giảm chuẩn ở mức tin cậy 95 % một phía;

CD là giá trị xác định đối với chênh lệch tới hạn.

VÍ DỤ Đối với $\sigma_d = 3,0 \text{ m}^\circ\text{C}$, $t_{0,95} = 1,645$ và $CD = 0,4 \text{ m}^\circ\text{C}$ thì $n \geq 152$ mẫu.

C.3.4 Hiệu chuẩn và kiểm tra hiệu chuẩn

Phân tích các dung dịch chuẩn natri clorua (5.3) với các giá trị điểm đóng băng đã biết trong cùng một điều kiện như đối với các mẫu thử. Chú ý rằng các điều kiện đối với cả hai phương pháp chuẩn và phương pháp thông dụng là như nhau. Cũng sử dụng các dung dịch chuẩn natri clorua giống nhau cho cả hai phương pháp

C.3.5 Đo các mẫu thử

Với các phương pháp thông dụng, có thể sử dụng các dung dịch chuẩn natri clorua (5.3) được bảo quản bằng chất diệt nấm hoặc kháng nấm. Tuy nhiên, việc bổ sung này không được ảnh hưởng quá $+1\text{ m}^{\circ}\text{C}$ so với dung dịch không bảo quản có nồng độ natri clorua tương tự. Nếu sử dụng, thuốc thử phải là loại tinh khiết phân tích và việc sử dụng các loại thuốc thử này không bị hạn chế bởi các quy định về môi trường. Khi sử dụng chất bảo quản, nồng độ natri clorua hơi thấp hơn để giữ chính xác điểm đóng băng giống như đối với dung dịch chuẩn natri clorua không được bảo quản (xem Bảng 1). Thiết lập thời hạn sử dụng đúng dựa vào các nghiên cứu đánh giá hiệu lực.

Xác định điểm đóng băng của các mẫu thử lặp lại hai lần bằng phương pháp chuẩn quy định trong tiêu chuẩn này.

Xác định điểm đóng băng của cùng một dãy các mẫu thử lặp lại hai lần bằng phương pháp thông dụng. Cần tránh chênh lệch về điều kiện môi trường giữa các phép đo với phương pháp chuẩn và phương pháp thông dụng.

C.3.6 Tính giá trị hiệu chỉnh

Hiệu chỉnh từng kết quả đơn lẻ bằng lượng tương ứng với chênh lệch giữa điểm đóng băng của mẫu kiểm chứng được sử dụng (xem 5.3) và giá trị xác định được trong lần kiểm tra hiệu chuẩn gần nhất. Sau đó tính các giá trị trung bình của điểm đóng băng đối với các phép đo lặp lại sử dụng phương pháp chuẩn. Tương tự, thực hiện đối với các phép đo sử dụng phương pháp thông dụng.

Tính độ lệch chuẩn, s , của các sai lệch đơn giữa các giá trị trung bình thu được bằng cả hai phương pháp. Bỏ các ngoại lệ, ví dụ các mẫu có sai lệch lớn hơn $3s$. Sau đó tính chênh lệch trung bình giữa các kết quả thu được bằng cả hai phương pháp. Làm tròn đến chữ số có nghĩa thứ hai và sử dụng giá trị này làm giá trị hiệu chỉnh.

Nếu sau khi loại trừ các ngoại lệ, s vẫn lớn hơn $3,0\text{ m}^{\circ}\text{C}$ thì làm việc với giá trị hiệu chuẩn cũng được coi là không đúng và vì thế là không được chấp nhận.

Một ví dụ với loạt mẫu giảm ($n = 10$) được đưa ra trong Bảng C.1.

Bảng C.1 – Ví dụ

Mẫu	Kết quả thu được bằng phương pháp chuẩn (1)					Kết quả thu được bằng phương pháp thông dụng (2)					Chênh lệch (2)-(1)
	Dữ liệu thô		Sau khi hiệu chỉnh			Dữ liệu thô		Sau khi hiệu chỉnh			
	1	2	1	2	trung bình	1	2	1	2	trung bình	
512 mẫu kiểm chung	-512,4	-513,0				-511,5	-512,7				
1	-517,5	-518,2	-516,8	-517,5	-517,15	-518,1	-519,2	-518,0	-519,1	-518,55	-1,40
2	-538,1	-536,9	-537,4	-536,2	-536,80	-537,3	-539,0	-537,2	-538,9	-538,05	-1,25
3	-521,8	-521,3	-521,1	-520,6	-520,85	-522,9	-521,8	-522,8	-521,7	-522,25	-1,40
4	-528,6	-529,9	-527,9	-529,2	-528,55	-530,3	-531,4	-530,2	-531,3	-530,75	-2,20
5	-522,3	-520,9	-521,6	-520,2	-520,90	-527,3	-529,2	-527,2	-529,1	-528,15	-7,25 ^a
6	-515,7	-518,1	-514,9	-517,3	-516,10	-517,7	-518,9	-518,1	-519,3	-518,70	-2,60
7	-523,4	-522,1	-522,6	-521,3	-521,95	-525,2	-524,7	-525,6	-525,1	-525,35	-3,40
8	-512,2	-513,8	-511,4	-513,0	-512,20	-514,1	-513,4	-514,5	-513,8	-514,15	-1,95
9	-516,1	-514,2	-515,3	-513,4	-514,35	-517,5	-518,2	-517,9	-518,6	-518,25	-3,90
10	-521,6	-522,3	-520,8	-521,5	-521,15	-521,4	-523,4	-521,8	-523,8	-522,80	-1,65
512 mẫu kiểm chung	-513,1	-512,5				-511,7	-511,5				
Sai lệch trung bình											-2,7
Độ lệch chuẩn s											1,73
Sai lệch trung bình sau khi loại bỏ số mẫu ngoại lệ											-2,2
Giá trị s sau khi loại bỏ dữ liệu ngoại lệ											0,88

^a Ngoại lệ

Chênh lệch trung bình giữa các kết quả khi đo bằng phương pháp thông dụng và phương pháp chuẩn trong ví dụ này là $-2,2 \text{ m}^\circ\text{C}$. Điều này cũng cần đến giá trị hiệu chỉnh khi đo bằng phương pháp thông dụng. Trong trường hợp này, nghĩa là hiệu chỉnh đến nhiệt độ ẩm hơn.

C.4 Tính hiệu lực

Giá trị hiệu chỉnh tính được có hiệu lực đối với sự kết hợp cụ thể của loại mẫu thử và thuộc tính của phương pháp thông dụng, nghĩa là các đặc tính của thiết bị, thời điểm ngừng đo, thể tích phần mẫu thử và nhiệt độ đồng bằng.

Phụ lục D

(Tham khảo)

Điều chỉnh giá trị điểm đóng băng được sử dụng làm giá trị chuẩn cho sữa tự nhiên

Phụ lục này đã được giới thiệu trong ISO 5764:2002, để giải thích cho các lí do sau:

Để đánh giá xem mẫu sữa có lẫn nước ngoại lai hay không thì cần phải so sánh điểm đóng băng của mẫu thử và điểm đóng băng của "mẫu sữa tự nhiên", nghĩa là sữa đã biết trước là không có nước ngoại lai.

Đối với nhiều loại mẫu (ví dụ: sữa được chế biến từ hỗn hợp của nhiều trang trại cung cấp khác nhau) thì thường không thu được giá trị chuẩn cho sữa tự nhiên. Trong các trường hợp như vậy thì cần phải lập giá trị chỉ định trung bình đối với sữa tự nhiên. Một số quốc gia đã đạt được giá trị điểm đóng băng đối với sữa tự nhiên sau khi kết thúc các khảo sát trên phạm vi rộng. Các quốc gia khác thì chấp nhận giá trị này dựa vào kết quả theo dõi trong nhiều năm.

Sự thay đổi trong thang nhiệt độ đóng băng có thể xuất hiện khi phương pháp được sử dụng có nhiều thay đổi so với phương pháp chuẩn quy định trong tiêu chuẩn này. Sự thay đổi trong thang nhiệt độ một phần do các bộ phận và tính năng của thiết bị ngày càng được chuẩn hoá và một phần do việc xác định lại điểm "ngừng" trên đường cong điểm đóng băng của sữa (xem C.1).

Rõ ràng rằng, sự thay đổi trong thang nhiệt độ sẽ làm tăng sự thay đổi trong các số đọc của điểm đóng băng so với các giá trị đã ghi lại trước đó. Điều này cho thấy cần thiết áp dụng sự thay đổi nhỏ đến các giá trị liên quan trước đó được sử dụng cho sữa tự nhiên. Nếu không có sự điều chỉnh nào thì có thể áp dụng sai số hệ thống để đánh giá nước ngoại lai trong sữa.

Do đó, nên điều chỉnh một lần mỗi khi áp dụng giá trị liên quan của sữa tự nhiên để phù hợp với thang đo mới trong tiêu chuẩn này. Sự điều chỉnh này cần được xây dựng hoặc được thiết lập dưới sự giám sát của cơ quan có thẩm quyền của từng quốc gia.

Sự điều chỉnh này có thể được thực hiện theo quy trình được nêu trong Phụ lục C với các chú ý dưới đây:

- a) tìm hướng dẫn về thống kê để thiết lập lượng mẫu tối ưu cần thiết đồng thời giữ cho sai số hệ thống ở mức thấp nhất có thể chấp nhận được;
- b) sử dụng các mẫu thử trong thử nghiệm tương ứng gần giống với loại sữa cần thử nghiệm;
- c) kiểm tra một loạt các mẫu trong thử nghiệm cứu theo phương pháp chuẩn này;
- d) kiểm tra một loạt các mẫu lặp lại hai lần bằng cách sử dụng phương pháp thử và các đặc trưng của thiết bị được sử dụng theo giá trị chuẩn liên quan trước đó đối với "sữa tự nhiên" đã được thiết lập;
- e) lưu giữ số liệu của nghiên cứu này để tham khảo sau này.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*
 - [2] TCVN 7153 (ISO 1042), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức.*
 - [3] 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.*
 - [4] 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.*
 - [5] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Measurement of extraneous water by determination of freezing point of milk. *Bull. IDF*, 1983, (154), pp. 1-43
 - [6] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Reference materials and interlaboratory collaborative studies. *Bull. IDF*, 1986, (207), pp. 1-207
 - [7] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Collaborative studies organized to include sheep and goat milk in the scope of joint standard ISO 5764 | IDF 108:2002, *Milk – Determination of freezing point – Thermistor cryoscope method (Reference method)*. *Bull. IDF*, 2007, (419), pp. 1-15
-