

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7086:2007

ISO 5738:2004

Xuất bản lần 2

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA -
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ĐỒNG – PHƯƠNG PHÁP
ĐO QUANG (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

*Milk and milk products – Determination of copper content –
Photometric method (Reference method)*

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 7086:2007 thay thế TCVN 7086:2002;

TCVN 7086:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 5738:2004/IDF 76:2004;

TCVN 7086:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn 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 và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng đồng Phương pháp đo quang (Phương pháp chuẩn)

*Milk and milk products – Determination of copper content –
Photometric reference method (Reference method)*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp chuẩn đo quang để xác định hàm lượng đồng trong sữa và sản phẩm sữa.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho:

- a) sữa, sữa gầy và butter milk;
- b) sữa cô và sữa đặc có đường;
- c) sữa bột nguyên chất và sữa bột gầy;
- d) cream và bơ;
- e) butterfat;
- f) kem lạnh;
- g) phomat cứng, nửa cứng và phomat mềm ở từng thời điểm khác nhau và phomat chế biến;
- h) casein, caseinat và coprecipitat.

Tiêu chuẩn này thích hợp cho việc xác định hàm lượng đồng trong các mẫu bơ và butterfat nhỏ hơn 0,05 mg/kg.

CHÚ THÍCH Chi tiết hơn, xem IDF 68 đối với butterfat.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 7086:2007

ISO 648:1977, Laboratory glassware – One-mark pipettes (Dụng cụ thủy tinh dùng trong phòng thử nghiệm – Pipet một vạch).

ISO 835-1:1981, Laboratory glassware – Graduated pipettes – Part 1: General requirements (Dụng cụ thủy tinh dùng trong phòng thử nghiệm – Pipet chia độ – Phần 1: Các yêu cầu chung).

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

hàm lượng đồng (copper content)

phần khối lượng của các chất xác định được theo qui trình mô tả trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Hàm lượng đồng được biểu thị bằng miligam trên kilogam.

4 Nguyên tắc

Chất hữu cơ có trong mẫu thử được thủy phân bằng hỗn hợp của axit nitric và axit sulfuric (đối với vàng sữa, bơ và butterfat thì phải loại bỏ chất béo trước khi thủy phân). Dung dịch này được trung hoà bằng dung dịch amoniac sau đó tạo phức đồng thành muối của axit diethyl dithiocarbamic. Muối đồng (II) được chiết bằng amyl axetat. Độ hấp thụ của dung dịch màu vàng được đo bằng cách đo quang.

Sự có mặt của bismut và/hoặc telur làm cản trở việc xác định đồng. Xem cách kiểm tra sự có mặt của chúng và phương pháp loại bỏ như qui định trong 8.6.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử tinh khiết phân tích và không chứa đồng, ngoại trừ các dung dịch chuẩn đồng (II) sunfat (5.12).

5.1 Nước, sử dụng nước cất hai lần, việc chưng cất lần cuối phải được tiến hành trong thiết bị chưng cất không chứa đồng.

5.2 Etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$), khoảng 96 % phần thể tích.

Chưng cất trong thiết bị chưng cất không chứa đồng, nếu cần.

5.3 Ete dietyl [$(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$].

Chưng cất trong thiết bị chưng cất không chứa đồng, nếu cần.

5.4 Xăng nhẹ (ete dầu hoả), có dải sôi trong khoảng từ 40 °C đến 60 °C.

Chung cất trong thiết bị chưng cất không chứa đồng, nếu cần.

5.5 Axit nitric, đậm đặc, $\rho_{20}(\text{HNO}_3) = 1,42 \text{ g/ml}$.

Chung cất trong thiết bị chưng cất không chứa đồng. Loại bỏ 50 ml đầu tiên.

5.6 Axit sulfuric.

5.6.1 Axit sulfuric, đậm đặc, $\rho_{20}(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/ml}$.

5.6.2 Axit sulfuric, loãng, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0,5 \text{ mol/l}$.

5.7 Dung dịch hydro peroxit, $\rho_{20}(\text{H}_2\text{O}_2) = 1,099 \text{ g/ml}$ đến $1,103 \text{ g/ml}$.

5.8 Dung dịch amoniac, đậm đặc, $\rho_{20}(\text{NH}_3) = 0,91 \text{ g/ml}$.

Làm sạch dung dịch amoniac bằng cách chưng cất chân không trong thiết bị chưng cất không chứa đồng, nếu cần.

5.9 Dung dịch EDTA/xitrat

Hoà tan trong nước 400 g amoni xitrat $[(\text{NH}_4)_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7]$ và 100 g muối dinatri EDTA ngậm 2 phân tử nước [muối dinatri ngậm 2 phân tử nước của axit (etylendinitrilo)-tetraaxetic] $(\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ vào trong bình định mức một vạch 1 000 ml (6.12). Thêm nước cho đến vạch.

Nếu cần làm sạch dung dịch EDTA/xitrat theo cách sau:

Cho 3 giọt dung dịch phenonphtalein (5.13) vào dung dịch EDTA/xitrat. Sau đó thêm đủ lượng dung dịch amoniac (5.8) cho đến khi dung dịch giữ được màu hồng nhạt. Thêm tiếp 10 mg natri dietyl dithiocacamat (5.10). Làm ấm dung dịch trên nồi cách thuỷ (6.5) đặt ở 60 °C trong khoảng 10 phút để muối natri dietyl dithiocacamat tan hết hoàn toàn. Để nguội đến nhiệt độ môi trường.

Chiết dung dịch EDTA/xitrat năm lần trong phễu chiết 2 lít bằng 15 ml dung dịch amyl axetat (5.11). Lặp lại toàn bộ qui trình làm sạch cho đến khi phần 15 ml amyl axetat cuối cùng còn lại không màu.

5.10 Dung dịch natri dietyl dithiocacamat $[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCSSNa}]$

Hoà tan 400 mg natri dietyl dithiocacamat ngậm 3 phân tử nước $[(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{NCSSNa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ trong 90 ml nước (5.1) đựng trong bình định mức một vạch 100 ml (6.12). Pha loãng bằng dung dịch amoni hydroxit (5.8) cho đến vạch.

Bảo quản dung dịch nơi tối trong tủ lạnh (0 °C đến 8 °C). Hàng tuần làm mới lại dung dịch.

5.11 Amyl axetat

Làm khô 1 lít amyl axetat trên 15 g natri sunfat khan trong 24 giờ. Chung cất trong thiết bị không chứa đồng. Thu lấy dịch cất trong khoảng nhiệt độ từ 136 °C đến 140 °C.

Có thể thay amyl axetat bằng xylen đã được chung cất trong thiết bị không chứa đồng.

5.12 Dung dịch chuẩn đồng (II) sunfat.

5.12.1 Dung dịch đồng gốc

Hoà tan trong nước 196,5 mg đồng (II) sunfat ngậm 5 phân tử nước ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) đựng trong bình định mức một vạch 1 000 ml (6.12). Cẩn thận thêm 5 ml dung dịch axit sulfuric loãng (5.6.2) và lắc đều. Pha loãng bằng nước (5.1) đến vạch.

5.12.2 Dung dịch làm việc

Chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

Sử dụng pipet một vạch (6.11) cho 10 ml dung dịch đồng gốc (5.12.1) vào 5 ml dung dịch axit sulfuric loãng (5.6.2) trước đó đã được cho vào bình định mức một vạch 500 ml (6.12) và lắc đều. Pha loãng bằng nước đến vạch mức.

CHÚ THÍCH 1 ml dung dịch đồng làm việc chứa 1 μg Cu.

5.13 Dung dịch phenolphthalein

Hoà tan 1 g phenolphthalein trong 100 ml etanol 90 % (phần thể tích).

5.14 Dung dịch kali xyanua (KCN), với 5 % phần khối lượng KCN.

CẢNH BÁO – Chú ý để đảm bảo an toàn, vì KCN là chất độc. Người sử dụng tiêu chuẩn này cần thiết lập thao tác thực hành an toàn sức khỏe và xác định khả năng áp dụng các hạn chế qui định trước khi sử dụng.

5.15 Dung dịch natri hydroxit, $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ mol/l}$.

6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Dụng cụ thuỷ tinh

Giữ dụng cụ thuỷ tinh sạch trong dung dịch axit nitric 10 % (phần khối lượng). Trước khi sử dụng, tráng ba lần bằng nước cất và sau đó lại tráng ba lần bằng nước cất hai lần. Làm khô bằng cách tráng lần lượt bằng etanol và ete dietyl, nếu cần.

- 6.2 Cân phân tích**, có thể cân chính xác đến 1 mg, có thể đọc đến 0,1 mg.
- 6.3 Dụng cụ nghiền hoặc xay xát thích hợp.**
- 6.4 Sàng**, cỡ lỗ danh định 0,5 mm, làm bằng vật liệu không chứa đồng.
- 6.5 Nồi cách thủy**, duy trì ở nhiệt độ ở $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$; $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, từ $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, từ $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, từ $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, từ $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ và từ $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $90\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 6.6 Đầu đốt nhỏ bằng ga.**
- 6.7 Bình thủy phân** (bình Kjeldahl) có nút thủy tinh mài, được chia độ ở phần dưới cách cổ bình 50 ml.
- 6.8 Bi thủy tinh**, được ngâm trong axit nitric 10 % (khối lượng), như đối với dụng cụ thủy tinh (6.1).
- 6.9 Ống đong chia độ**, dung tích 5 ml và 25 ml.
- 6.10 Pipet chia độ**, dung tích 5 ml và 25 ml, được chia độ 0,1 ml, phù hợp với loại A của ISO 835-1 : 1981.
- 6.11 Pipet một vạch**, có thể phân phối 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml và 20 ml, phù hợp với loại A của ISO 648:1977.
- 6.12 Bình định mức một vạch**, dung tích 100 ml, 500 ml và 1 000ml.
- 6.13 Máy đo quang phổ**, thích hợp để đo độ hấp thụ ở bước sóng 436 nm, được trang bị các cuvet có chiều dài đường quang 10 mm.

7 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

Trong suốt quá trình lấy mẫu chú ý để tránh nhiễm bẩn đồng. Bảo quản các bình lấy mẫu bằng thủy tinh trong dung dịch axit nitric 10 % (phần khối lượng).

Bảo quản mẫu sao cho tránh được sự giảm chất lượng và thay đổi thành phần.

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

CHÚ Ý – Tránh nhiễm bẩn đồng trong suốt quá trình tiến hành thử nghiệm.

8.1.1 Sữa và sữa gầy

Đưa mẫu thử về nhiệt độ 20 °C trên nồi cách thủy (6.5) và trộn thật cẩn thận. Nếu trường hợp chất béo trong mẫu sữa phân tán không đồng đều, thì làm ấm mẫu từ từ trên nồi cách thủy (6.5) đặt ở 40 °C trong khi vẫn trộn nhẹ bằng cách đảo chiều. Sau đó làm nguội nhanh trên nồi cách thủy (6.5) khác để ở 20 °C.

8.1.2 Buttermilk

Loại bỏ hết những hạt bơ, nếu cần. Đưa mẫu về nhiệt độ 20 °C trên nồi cách thủy (6.5). Trộn kỹ ngay trước khi cân (xem 8.2.1).

8.1.3 Váng sữa

Đưa mẫu về nhiệt độ 20 °C trên nồi cách thủy (6.5). Trộn hoặc khuấy đều nhưng không quá mạnh để tránh tạo bọt hoặc đánh kem. Nếu mẫu quá đặc, hoặc nếu chất béo không phân tán đồng đều, thì làm nóng từ từ trên nồi cách thủy (6.5) đặt ở 40 °C để trộn được dễ dàng. Làm nguội mẫu nhanh trên nồi cách thủy (6.5) khác đặt ở 20 °C.

CHÚ THÍCH Nếu trộn mẫu chưa đều hoặc nếu mẫu có biểu hiện tạo bọt rõ rệt hoặc có những dấu hiệu không bình thường khác thì có thể sẽ không cho kết quả chính xác.

8.1.4 Sữa cô

Lắc và lật ngược vật chứa mẫu thử. Mở vật chứa, rót từ từ sữa vào trong vật chứa khác bằng thủy tinh có nắp đậy kín. Cẩn thận vét hết tất cả chất béo hoặc thành phần khác dính trên thành vật chứa đầu tiên cho vào mẫu. Khuấy mạnh và đậy nắp vật chứa.

Làm nóng vật chứa đã đậy nắp trên nồi cách thủy (6.5) đặt ở 40 °C đến 60 °C. Cứ 15 phút lấy vật chứa ra và lắc mạnh. Sau 2 giờ lấy vật chứa ra. Làm nguội trên nồi cách thủy (6.5) khác đặt ở 20 °C. Mở nắp, dùng thìa hoặc dao khuấy để trộn đều.

CHÚ THÍCH Nếu chất béo tách riêng, thì có thể không cho kết quả chính xác.

8.1.5 Sữa đặc có đường

Mở vật chứa và dùng thìa hoặc dao trộn đều sữa, trộn kỹ từ trên xuống dưới sao cho các lớp sữa ở dưới đáy và ở trên được trộn lẫn với nhau. Cẩn thận lấy hết tất cả sữa bám ở thành vật chứa và đáy vật chứa cho vào mẫu thử.

Chuyển hết mẫu thử sang vật chứa thứ hai bằng thủy tinh có nắp đậy kín. Đậy nắp lại. Làm nóng vật chứa đã được đậy kín trên nồi cách thủy (6.5) ở nhiệt độ từ 30 °C đến 40 °C. Làm nguội trên một nồi cách thủy (6.5) khác đặt ở 20 °C. Khuấy đều mẫu trong vật chứa. Trộn cho đến khi tất cả là một khối đồng nhất và đậy vật chứa lại.

Trong trường hợp ống có thể gấp lại được, thì mở ống và chuyển lượng chứa bên trong sang vật chứa bằng thủy tinh. Cắt mở ống và chuyển hết tất cả phần còn bám vào thành trong của ống sang vật chứa.

8.1.6 Sữa bột nguyên chất và sữa bột gầy

Chuyển sữa bột vào vật chứa có nắp đậy kín, có dung tích lớn gấp hai lần thể tích sữa bột. Đậy ngay vật chứa lại. Trộn đều sữa bột bằng cách lặp lại việc lắc và lật ngược vật chứa.

8.1.7 Bơ

8.1.7.1 Nếu mẫu thử đã đồng nhất, thì làm mát mẫu đến $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ trước khi cân để chuyển mẫu được dễ dàng sang bình thủy phân.

8.1.7.2 Nếu mẫu không đồng nhất nhìn thấy rõ, thì làm ấm mẫu đến nhiệt độ vừa đủ ấm để dễ trộn đến trạng thái trạng đồng nhất mà không tạo nhũ. Nhiệt độ trộn thường không vượt quá $35\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Trong khi trộn, làm nguội mẫu trên nồi cách thủy (6.5) đến khoảng $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (hoặc cho đến khi hơi cứng). Ngay sau khi làm nguội, mở vật chứa mẫu và khuấy nhanh không quá 10 giây bằng thìa hoặc dao trộn. Tiến hành như trong 8.1.7.1.

8.1.8 Butterfat

Trước khi cân, làm ấm mẫu thử trên nồi cách thủy (6.5) đặt ở $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Giữ ở nhiệt độ này trong 5 phút và trộn nhẹ.

8.1.9 Kem lạnh

Đối với mẫu lấy trong các gói nhỏ, thì tháo bỏ bao bì và cho mẫu vào trong vật chứa có nắp đậy kín. Đối với mẫu lấy từ khối lớn hoặc lấy từ bao gói lớn, thì giữ nguyên chúng trong vật chứa mẫu. Trong cả hai trường hợp, làm tan chảy mẫu bằng cách đặt vật chứa mẫu vào nồi cách thủy (6.5) đặt ở $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ trong thời gian vừa đủ để làm mẫu trở thành dạng lỏng. Lắc để trộn đều mẫu. Làm nguội mẫu trên một nồi cách thủy (6.5) khác đặt ở $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ vẫn tiếp tục trộn cho đến khi nguội hẳn.

8.1.10 Phomat và phomat chế biến

Cắt bỏ vỏ hoặc lớp bề mặt bị mốc khỏi mẫu thử sao cho mẫu thu được đúng mẫu đại diện của loại phomat thông thường tiêu thụ. Dùng các dụng cụ phù hợp (6.3) để nghiền hoặc xay mẫu. Trộn nhanh toàn bộ cả khối đã nghiền hoặc xay nhỏ, và nếu có thể nên nghiền hoặc xay lại sau đó trộn đều.

Nếu mẫu thử không thể nghiền hoặc xay (ví dụ: phomat mềm), thì trộn kỹ mẫu. Chuyển ngay phần mẫu thử đã xử lý, hoặc một phần đại diện của mẫu sang vật chứa có nắp đậy kín.

TCVN 7086:2007

Sau khi nghiền xong phải tiến hành phân tích mẫu, càng nhanh càng tốt. Khi mẫu phomat đã xay hoặc đã nghiền cho thấy sự phát triển của nấm mốc không được như mong đợi hoặc bắt đầu suy giảm chất lượng thì không phân tích mẫu đó. Rửa sạch dụng cụ sau mỗi lần nghiền hoặc xay mẫu.

8.1.11 Casein, caseinat và coprecipitat

8.1.11.1 Nếu phần lớn mẫu đã mịn lọt hết qua sàng (6.4), thì có thể được dùng ngay mà không phải nghiền. Chuyển khoảng 50 g mẫu thử đã nhận được cho vào bình chứa có nắp đậy kín khí, có dung tích lớn gấp đôi thể tích mẫu.

Đậy nắp bình chứa. Trộn kỹ mẫu bằng cách lắc và đảo chiều bình chứa mẫu.

8.1.11.2 Nếu phần lớn mẫu thử không đủ nhỏ để lọt hết hoặc gán hết qua sàng (6.4), thì nghiền tiếp khoảng 50 g mẫu thử cho đến khi lọt hết qua sàng. Chuyển hết mẫu thử sang bình chứa. Tiến hành theo 8.1.11.1.

8.2 Cân và xử lý sơ bộ phần mẫu thử

8.2.1 Sữa, sữa gầy và butter milk

Cân 20 g mẫu thử (8.1.1 và 8.1.2), chính xác đến 10 mg, cho vào bình thủy phân (6.7). Thêm 3 ml axit nitric (5.5) và 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Tiếp tục theo 8.3.

8.2.2 Sữa cô

Cân 8 g mẫu thử (8.1.4), chính xác đến 10 mg cho vào bình thủy phân (6.7). Thêm 10 ml nước (5.1) và 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Tiếp tục theo 8.3.

8.2.3 Sữa đặc có đường

Cân 5 g mẫu thử (8.1.5), chính xác đến 10 mg cho vào bình thủy phân (6.7). Thêm 3 ml axit nitric (5.5) và 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Không thêm axit nitric ở giai đoạn này bởi vì tạo bọt quá nhiều. Tiếp tục theo 8.3.

8.2.4 Sữa bột nguyên chất và sữa bột gầy

Cân 2 g mẫu thử (8.1.6), chính xác đến 1 mg cho vào bình thủy phân (6.7). Cho 5 ml nước (5.1) và trộn đều. Sau đó thêm 3 ml axit nitric (5.5) và 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Tiếp tục theo 8.3.

8.2.5 Cream, bơ và butterfat

Cân 20 g mẫu thử (8.1.3, 8.1.7 và 8.1.8) chính xác đến 10 mg cho vào bình thủy phân (6.7). Trong trường hợp váng sữa hoặc bơ thì thêm 8 ml axit nitric (5.5), còn trường hợp butterfat thì thêm 4 ml nước (5.1) và 8 ml axit nitric (5.5). Đun nóng bình trong nồi cách thủy (6.5) ở 80 °C đến 90 °C trong 1 giờ. Cứ 3 phút lắc kỹ bình một lần để rửa chất béo bằng axit nitric (5.5). Làm nguội trên nồi cách thủy (6.5) khác, đặt ở 40 °C và dùng pipet loại bỏ lớp chất béo càng nhiều càng tốt.

Thêm 15 ml ete dầu hoả (5.4). Khuấy kỹ và dùng pipet loại bỏ dung môi càng nhiều càng tốt. Lặp lại hai lần, mỗi lần dùng 15 ml ete dầu hoả (5.4) mới. Loại bỏ phần ete dầu hoả còn lại bằng cách đun nóng nhẹ trên nồi cách thủy (6.5) ở nhiệt độ từ 80 °C đến 90 °C. Làm nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Tiếp tục theo 8.3.

8.2.6 Kem lạnh, phomat và chế biến phomat

Cân 3 g mẫu thử (8.1.9, 8.1.10), chính xác đến 1 mg cho vào bình thủy phân (6.7). Thêm 3 ml axit nitric (5.5) và 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Tiếp tục theo 8.3.

8.2.7 Casein, caseinat và coprecipitat

Cân 1 g mẫu thử (8.1.11) chính xác đến 1 mg, cho vào bình thủy phân (6.7). Thêm 5 ml nước (5.1), 3 ml axit nitric (5.5) và 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1). Tiếp tục theo 8.3.

8.3 Thủy phân

8.3.1 Cho thêm ba viên bi thủy tinh (6.8) vào lượng chứa trong bình thủy phân (8.2.1 đến 8.2.7). Thao tác trong tủ hút hoạt động tốt, đặt bình ở tư thế nghiêng và làm nóng bằng đầu đốt nhỏ (6.6) để đốt. Giám sát chiều cao của ngọn lửa để hạn chế tạo bọt trong bình. Cho phép bọt dâng cao đến cổ bình nhưng không để bọt tràn ra ngoài. Giữ cho hỗn hợp sôi nhẹ. Tránh để quá nhiệt từng phần.

Tiến hành phép thử trắng (xem 8.5) đồng thời với việc xác định.

8.3.2 Khi dung dịch đã chuyển sang màu nâu, thêm cẩn thận từ 3 giọt đến 5 giọt axit nitric (5.5). Lắc mạnh dung dịch càng nhanh càng tốt. Tiếp tục đun và thêm axit nitric, mỗi lần từ 5 giọt đến 20 giọt, thỉnh thoảng khuấy để lấy hết các chất bám ở thành bình. Tiếp tục cho đến khi hỗn hợp còn lại không màu sau đó làm nguội đến nhiệt độ phòng.

8.3.3 Thêm cẩn thận 2 ml nước (5.1) và 1 ml dung dịch hydro peroxit (5.7). Khuấy và đun tiếp cho đến khi có khói trắng. Nếu dung dịch chuyển thành màu vàng, thì thêm tiếp 0,5 ml dung dịch hydro peroxit. Tiếp tục đun thêm 45 phút tính từ khi có khói trắng bốc lên. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và thêm nước cho đến khi tổng thể tích khoảng 25 ml.

TCVN 7086:2007

8.3.4 Cho 5 ml dung dịch EDTA/xitrat (5.9) và 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (5.13). Thêm dung dịch amoniac (5.8), thỉnh thoảng khuấy cho đến khi hỗn hợp còn lại màu đỏ nhạt .

8.4 Hiện màu

Trong suốt quá trình hiện màu và xác định bằng phương pháp đo quang, phải tránh tiếp xúc ánh sáng mạnh hơn độ rọi 150 lx (ánh nắng dịu ban ngày). Trong khi khuấy, thêm 5 ml dung dịch natri dietyl dithiocacamat (5.10). Thêm nước đến vạch 50 ml và dùng pipet lấy 4 ml amyl axetat (5.11) cho vào trong dung dịch. Đậy nắp bình và trộn. Đun nóng bình đậy kín 10 phút trên nồi cách thủy (6.5) đặt ở 60 °C đến 65 °C. Sau đó lắc mạnh bình trong 1 phút và liên tục lật ngược bình, đảm bảo rằng nút đậy vẫn nguyên vị trí. Làm nguội nhanh bình còn đậy nắp dưới vòi nước chảy ít nhất 10 phút.

Trong trường hợp dùng xylene thay cho amyl axetat, thì lắc bình trong 2 phút.

Loại màu đục trong lớp amyl axetat bằng cách cẩn thận nghiêng bình từ tư thế thẳng đứng sang tư thế nằm ngang, vài lần. Cẩn thận tiếp tục nghiêng bình nếu vẫn còn đục. Giữ bình 1 giờ ở nơi tối.

8.5 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng đối với thuốc thử đồng thời với phép xác định, bằng cách dùng tất cả các thuốc thử và 20 ml nước (5.1) thay cho phần mẫu thử. Trong suốt quá trình thủy phân, dùng cùng một lượng axit nitric (5.5) và dung dịch hydro peroxit (5.7) như đã dùng để thủy phân phần mẫu thử.

8.6 Đo quang

Dùng pipet lấy lớp amyl axetat (lớp phía trên) cho vào cuvet 10 mm của dụng cụ đo quang phổ (6.13). Đo độ hấp thụ của lớp amyl axetat của dung dịch thử (8.4) và của dung dịch trắng thuốc thử (8.5) dựa vào nước ở bước sóng 436 nm. Lấy giá trị của dung dịch thử trừ đi giá trị dung dịch trắng thuốc thử.

Giá trị độ hấp thụ của mẫu thử trắng phải tương ứng nhỏ hơn 0,4 $\mu\text{g Cu}/50\text{ ml}$. Nếu giá trị mẫu thử trắng cao hơn, thì phải kiểm tra lại tất cả các thuốc thử.

Bitmut và telur có thể được coi như không có mặt, nếu như lớp amyl axetat trở nên không màu sau khi lắc với dung dịch kali xyanua (5.14). Mặt khác, chúng có thể loại được bằng cách rửa lớp amyl axetat với dung dịch natri hydroxit (5.15).

8.7 Số lần xác định

Thực hiện các phép xác định, kể cả phép thử trắng (8.5), mỗi loại hai lần.

8.8 Đường chuẩn

8.8.1 Dùng pipet lấy 0 ml (mẫu trắng); 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml và 6 ml dung dịch làm việc chuẩn đồng (II) sunfat (5.12.2) cho vào một dãy bảy bình thủy phân (6.7). Pha loãng bằng nước (5.1) đến khoảng 25 ml. Thêm 2,5 ml axit sulfuric đậm đặc (5.6.1) và lắc đều. Thêm 5 ml dung dịch EDTA/xitrat (5.9) và 0,1 ml dung dịch phenolphthalein (5.13) và lắc đều lại. Thêm dung dịch amoniac (5.8), trong khi thỉnh thoảng vẫn khuấy cho đến khi hỗn hợp còn lại màu đỏ nhẹ.

8.8.2 Cách tiến hành như mô tả trong 8.4.

8.8.3 Dùng pipet lấy từng lớp amyl axetat (lớp phía trên) cho vào cuvet 10 mm của dụng cụ đo quang phổ (6.13). Đo độ hấp thụ của lớp amyl axetat dựa vào nước ở bước sóng 436 nm. Lấy giá trị tìm được của các dung dịch trừ đi giá trị thử trắng.

8.8.4 Dụng đồ thị của các độ hấp thụ này dựa vào hàm lượng đồng được thêm vào.

8.8.5 Hàng tháng phải kiểm tra đường chuẩn.

9 Tính và biểu thị kết quả

9.1 Phương pháp tính

Hàm lượng đồng của mẫu, w , được biểu thị bằng miligam trên kilogam, tính theo công thức:

$$w = \frac{m_2}{m_1}$$

trong đó

m_1 là khối lượng của phần mẫu thử (xem 8.2), tính bằng gam;

m_2 là khối lượng của đồng, đọc được từ đường chuẩn (hoặc tính được từ đường hồi qui thu được bằng phương pháp bình phương nhỏ nhất), tính bằng microgam (xem 8.8.4).

Khi các yêu cầu về độ lặp lại (xem 10.2) thoả mãn, thì lấy kết quả trung bình số học của các giá trị thu được.

9.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả đến ba chữ số thập phân. Đối với sữa bột nguyên chất và sữa bột gầy và casein, caseinat và coprecipitat thì biểu thị đến hai chữ số thập phân.

10 Độ chụm

10.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm được đưa ra trong phụ lục A. Các giá trị thu được này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và chất nền khác với các giá trị đã nêu.

10.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, do cùng một người phân tích, sử dụng cùng một thiết bị trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp vượt quá các giá trị đưa ra trong Bảng A.1.

10.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, do các người phân tích khác nhau thực hiện trong các phòng thử nghiệm khác nhau, sử dụng các thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn các giá trị đưa ra trong bảng A.1.

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ ra:

- 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 chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được và nếu độ lặp lại được kiểm tra thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(tham khảo)

Các kết quả thử liên phòng thử nghiệm

Một nghiên cứu liên phòng thử nghiệm đã được thực hiện và kết quả đã được công bố (chi tiết, xem [5]).

Các kết quả thu được từ phân tích thống kê phù hợp với TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994) và TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994) cho các dữ liệu về độ chụm được đưa ra trong bảng A.1.

Bảng A.1 – Các kết quả phân tích liên phòng thử nghiệm

Tên sản phẩm	Hàm lượng (phần khối lượng) mg/kg	Giới hạn lặp lại mg/kg	Giới hạn tái lập mg/kg
Sữa	0,03	0,004	0,010
Sữa gầy	0,03	0,004	0,010
Buttermilk	0,03	0,004	0,010
Cream	0,03	0,004	0,020
Bơ	0,04	0,004	0,020
Butterfat	0,04	0,004	0,020
Sữa bột nguyên chất	0,30	0,05	0,10
Sữa bột gầy	0,80	0,05	0,10
Sữa cô	0,06	0,008	0,020
Sữa đặc có đường	0,06	0,008	0,020
Kem lạnh	0,20	0,030	0,060
Phomat và phomat chế biến	0,20	0,030	0,060
Casein, caseinat và coprecipitat	1,8	0,15	0,30

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] IDF 68, Anhydrous milkfat, anhydrous butteroil or anhydrous butterfat, butteroil and butterfat, ghee (compositional standards).
 - [2] TCVN 6400 (ISO 707) Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.
 - [3] TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994) 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 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994) 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] GRIEPINK, B., COLINET, E., GONSKA, H. and MUNTAU, H. The certification of contents (mass fraction) of Cd, Cu, Fe, Hg and Pb in one natural sample of skim milk powder (BCR 63) and in two spiked samples of skim milk powder (BCR 150 and 151). Report EUR 9251 EN, 1984.
-