

Lời nói đầu

TCVN 7774:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 5542:1984;

TCVN 7774:2007 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 – Xác định hàm lượng protein – Phương pháp nhuộm đen amido (Phương pháp thông thường)

Milk – Determination of protein content – Amido black dye-binding method (Routine method)

1 Phạm vi áp dụng

1.1 Tiêu chuẩn này qui định phương pháp nhuộm đen amido để xác định hàm lượng protein trong sữa như một phương pháp thông thường.

Do thành phần của vật liệu nhuộm đen amido có thể thay đổi, nên phương pháp đã được mô tả là theo kinh nghiệm và phụ thuộc vào hằng số liên quan đến hàm lượng protein thu được từ việc xác định hàm lượng nitơ trong sữa bằng phương pháp chuẩn Kjeldahl (ví dụ: như mô tả trong IDF Standard 20).

1.2 Phương pháp này có thể áp dụng cho sữa tươi nguyên liệu hoặc sữa nguyên chất, sữa tách một phần chất béo và sữa gầy đã xử lý nhiệt hoặc chế biến bằng cơ học (ví dụ: thanh trùng, tiệt trùng, đông hoá, hoàn nguyên), với điều kiện là các mẫu này ở trạng thái tốt. Trong một vài trường hợp, phương pháp này cũng có thể áp dụng cho các mẫu đã được bảo quản (xem 10.1).

Phương pháp này cho phép xác định đơn giản và nhanh về hàm lượng protein trong sữa và thích hợp cho một phép xác định đơn lẻ hoặc cho các phép xác định trên một số lượng nhỏ các mẫu và cho một dãy nhiều phép xác định. Đối với một dãy các phép xác định, cần đến các thiết bị đặc thù (nghĩa là dụng cụ pipet nhiều đầu, các máy ly tâm) (xem 6.4 và 6.7) và thường xuyên kiểm tra các mẫu kiểm chứng về việc hiệu chỉnh "độ trệch" (xem 8.6.2). Vì phương pháp này tốn nhiều thời gian hiệu chuẩn, nên các phòng thử nghiệm mà chỉ thực hiện một vài phép xác định trên các loại mẫu cụ thể và thường trông cậy vào các phòng thử nghiệm trung tâm về các dung dịch nhuộm và các mẫu kiểm chứng.

CHÚ THÍCH Tuy theo nguồn gốc của mẫu và phương pháp chuẩn được sử dụng mà phương pháp mô tả trong tiêu chuẩn này có thể được dùng không những cho phép xác định thông thường về hàm lượng protein trong sữa (nghĩa là nitơ tổng số x 6,38) mà còn để xác định hàm lượng "protein thực" hoặc có cải biến cho hàm lượng protein casein hoặc protein whey trong sữa bò và sữa thu được từ các loài động vật khác (dê, cừu...).

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. 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 6400 (ISO 707), Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.

IDF Standard 20: Determination of protein content of milk by the Kjeldahl method (Xác định hàm lượng protein trong sữa bằng phương pháp Kjeldahl).

3 Định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này áp dụng định nghĩa sau:

Hàm lượng protein (protein content)

Giá trị qui ước thu được bằng cách nhân hàm lượng nitơ xác định được bằng phương pháp Kjeldahl (ví dụ: như mô tả trong IDF Standard 20) tính bằng phần trăm khối lượng, với một hệ số thích hợp.

CHÚ THÍCH Cần chú ý để phân biệt "hàm lượng protein" của sữa theo định nghĩa trên đây với "hàm lượng protein thực" mà đã loại bỏ phần nitơ phi protein (NPN) của sữa.

4 Nguyên tắc

Cho dung dịch đen amido được đệm ở pH 2,4, vào phần mẫu thử, kết quả tạo thành phức chất protein nhuộm màu không hoà tan. Loại bỏ hợp chất không tan này bằng ly tâm (hoặc lọc) và xác định hàm lượng protein từ độ hấp thụ của dung dịch tạo thành có chứa lượng thuốc nhuộm vượt trội.

5 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải thuộc loại phân tích, trừ khi có qui định khác. Nước được sử dụng phải là nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương.

CHÚ THÍCH Các ion canxi sẽ cản trở phép xác định.

5.1 Thuốc nhuộm đen amido 10B, (axit đen 1, CI 20470)¹⁾ để thử nghiệm sữa, có độ ẩm nhỏ hơn 5 % (phần khối lượng), hoặc sản phẩm tinh sạch tiếp theo.

CHÚ THÍCH Thuốc nhuộm là loại hút ẩm và cần được bảo vệ để không bị hấp thụ ẩm.

¹⁾ Vật liệu thích hợp có bán sẵn trên thị trường. Các chi tiết có thể lấy được từ Ban thư ký ISO /TC 34 (MSZH, Hungary) hoặc từ Ban thư ký trung tâm của ISO.

5.2 Dung dịch chuẩn đen amido.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn theo một trong các qui trình dưới đây:

5.2.1 Dung dịch chuẩn ban đầu, để chuẩn bị các dung dịch chuẩn đối chứng.

Cho vào bình định mức 1 000 ml có chứa khoảng 600 ml nước các loại sau đây:

- 0,900 g thuốc nhuộm đen amido 10B đã tinh sạch có hàm lượng thuốc nhuộm cao;
- 2,08 g dinatri hydro octophosphat ngậm hai phân tử nước ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- 15,8 g axit xitric ngậm một phân tử nước ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

Khuấy bằng cơ học trong 2 h để hoà tan. Dùng máy đo pH (6.8) để kiểm tra pH, pH phải là $2,40 \pm 0,10$ ở 20°C ; chỉnh pH bằng cách thêm dung dịch axit sulfuric hoặc dung dịch natri hydroxit, nếu cần. Pha loãng bằng nước đến vạch và lắc 15 min.

Để yên dung dịch qua đêm trước khi sử dụng. Nếu dung dịch được sử dụng trong vài ngày thì bảo quản bằng cách thêm 0,1 ml dung dịch thymol 5 % trong cồn 94 % đến 97 % (phần thể tích).

Từ dung dịch chuẩn ban đầu này, chuẩn bị dung dịch so sánh chuẩn như trong 5.3.2 và 5.3.3. Xác định độ hấp thụ tương đối với nước cất ở bước sóng chuẩn trong cuvet chuẩn.

5.2.2 Dung dịch chuẩn, dùng cho các phép xác định thông thường với một số lượng giới hạn.

Hoà tan hết trong cốc có mỏ:

- 0,90 g đến 0,95 g thuốc nhuộm đen amido 10B (5.1) (tùy thuộc vào hàm lượng thuốc nhuộm);
- 2,08 g dinatri hydro octophosphat ngậm hai phân tử nước ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- 15,8 g axit xitric ngậm một phân tử nước ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

trong khoảng từ 100 ml đến 200 ml nước, ở nhiệt độ từ 70°C đến 80°C , hoặc các lượng gấp đôi hoặc gấp ba của thuốc thử và nước.

Làm nguội và chuyển sang các bình định mức 1 000 ml, 2 000 ml hoặc 3 000 ml, pha loãng đến 600 ml, 1 200 ml hoặc 1 800 ml tương ứng và trộn. Chỉnh pH đến $2,40 \pm 0,10$ ở 20°C như trong 5.2.1. Pha loãng đến vạch và lắc trộn trong 15 min. Để yên qua đêm.

Từ dung dịch ban đầu này, chuẩn bị dung dịch so sánh chuẩn như trong 5.3.2 và 5.3.3. Xác định các độ hấp thụ tương đối với nước cất như trong 5.2.1. Pha loãng dung dịch ban đầu này với một lượng dung

TCVN 7774:2007

dịch đệm xitrat (5.2.4) đã biết để thu được dung dịch chuẩn mà các dung dịch chuẩn này có cùng độ hấp thụ như đã thu được từ chuẩn ban đầu (5.2.1).

Bảo quản như mô tả trong 5.2.1 và để yên qua đêm.

CHÚ THÍCH Vì nồng độ của đen amido thay đổi từ mẻ này đến mẻ khác, nên đối với mỗi một mẻ thuốc thử mới cần điều chỉnh nồng độ của dung dịch chuẩn ban đầu như trong 5.2.1, để cho các độ hấp thụ của các dung dịch so sánh chuẩn được chuẩn bị trong 5.3.2 và 5.3.3 giống với độ hấp thụ thu được trong quá trình hiệu chuẩn (xem 8.5).

5.2.3 Dung dịch chuẩn, dùng cho các dãy xác định thông thường

Khuấy bằng cơ học trong 2 h để hoà tan hết các lượng tương ứng thuốc thử như qui định trong 5.2.2 với một lượng nước vừa đến mức thấp hơn vạch thích hợp, đựng trong bình có vạch mức 1 000 ml (có nhiều vạch). Chính pH đến $2,40 \pm 0,10$ ở 20 °C như mô tả trong 5.2.1. Pha loãng bằng nước đến vạch và lắc 15 min. Để yên dung dịch qua đêm.

Từ dung dịch ban đầu này, chuẩn bị dung dịch so sánh chuẩn như qui định trong 5.3.2, 5.3.3 và xác định các độ hấp thụ tương đối với nước cất như trong 5.2.1. Pha loãng dung dịch ban đầu này với một lượng đã biết của dung dịch đệm xitrat (5.2.4) để thu được dung dịch chuẩn, từ dung dịch này chuẩn bị các dung dịch so sánh chuẩn có cùng độ hấp thụ như đã thu được từ chuẩn ban đầu (5.2.1).

Bảo quản dung dịch theo 5.2.1 và để yên qua đêm.

Xem chú thích trong 5.2.2.

Kiểm tra lần cuối và chỉnh nồng độ sử dụng mẫu kiểm chứng của sữa được lấy từ thùng lớn (xem 8.6) có hàm lượng protein đã được xác định bằng phương pháp chuẩn Kjeldahl (IDF Standard 20).

5.2.4 Dung dịch đệm, để pha loãng

Cho vào bình định mức 1 000 ml có chứa khoảng 600 ml nước các loại sau đây:

- 2,08 g dinatri hydro octophosphat ngậm hai phân tử nước ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$);
- 15,8 g axit xitric ngậm một phân tử nước ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$).

Khuấy trộn và pha loãng bằng nước đến vạch.

Có thể lấy các bộ số của thuốc thử và nước theo yêu cầu.

Mọi sự pha loãng được thực hiện với dung dịch đệm này.

5.3 Đen amido, dung dịch so sánh chuẩn

Chuẩn bị các dung dịch (các dung dịch so sánh chuẩn) của dung dịch đen amido chuẩn (5.2) như sau:

5.3.1 Trộn 10 thể tích dung dịch đen amido chuẩn với 90 thể tích nước bằng cách dùng pipet lấy 10 ml dung dịch đen amido chuẩn cho vào bình định mức một vạch 100 ml và pha loãng đến vạch.

CHÚ THÍCH Dung dịch này được sử dụng thay cho nước để thiết lập thang đọc zero của máy đo quang phổ (6.6), sao cho thu được sự giãn nở thang đo và phần thang đo logarit ở đó các vạch chia có thể được sử dụng.

5.3.2 Trộn 50 thể tích dung dịch đen amido chuẩn với 50 thể tích nước bằng cách dùng pipet lấy 50 ml dung dịch đen amido chuẩn cho vào bình định mức một vạch 100 ml và pha loãng đến vạch.

5.3.3 Trộn 20 thể tích dung dịch đen amido chuẩn với 80 thể tích nước bằng cách dùng pipet lấy 20 ml dung dịch đen amido chuẩn cho vào bình định mức một vạch 100 ml và pha loãng đến vạch.

CHÚ THÍCH Các dung dịch 5.3.2 và 5.3.3 là tương đương với các nồng độ protein thấp, cao và sẽ cho các giá trị tương ứng. Chúng được sử dụng để kiểm soát hiệu chuẩn (xem 8.6.2).

5.4 Dung dịch đệm chuẩn, để chuẩn hoá máy đo pH (6.8).

6 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các thiết bị, dụng cụ tiếp xúc với thuốc thử hoặc dung dịch thử phải được làm bằng vật liệu không ăn mòn dưới các điều kiện thử nghiệm và không hấp phụ thuốc nhuộm với lượng mà có thể ảnh hưởng đến kết quả.

6.1 Ống nghiệm hoặc ống ly tâm, có nắp đậy bằng cao su, nếu cần.

6.2 Giá đỡ, dùng cho ống nghiệm hoặc ống ly tâm (6.1).

6.3 Pipet hoặc xyranh, dùng để phân phối 1,0 ml \pm 0,003 ml sữa (xem chú thích trong 6.4).

6.4 Pipet hoặc xyranh, dùng để phân phối 20 ml \pm 0,02 ml dung dịch đen amido chuẩn (5.2)

CHÚ THÍCH

1) Có thể sử dụng các pipet hoặc xyranh (6.3 và 6.4) có các dung tích khác, với điều kiện là tỷ lệ giữa thể tích của phần mẫu thử (xem 8.2) và thể tích của dung dịch đen amido (xem 8.3.1) là 1:20 và nồng độ của đen amido trong dịch lỏng phía trên (xem 8.3.3) luôn lớn hơn 0,1 g/l.

2) Mọi dụng cụ pipet nhiều đầu được sử dụng phải thoả mãn các điều kiện của pipet hoặc xyranh đơn được mô tả trong tiêu chuẩn này.

6.5 Máy lắc cơ học hoặc máy trộn quay hoặc thiết bị trộn khí nén, nếu cần.

6.6 Máy đo quang phổ, có thể đo được ở bước sóng trong khoảng từ 550 nm đến 620 nm, có các cuvet (tốt nhất là kiểu dòng xuyên) với chiều dài đường quang từ 0,2 mm đến 1,0 mm.

CHÚ THÍCH Không cần thiết phải thực hiện ở bước sóng chính xác tương ứng với độ nhạy tối đa vì thực tế cho thấy rằng việc hiệu chuẩn bù trừ cho độ lệch (xem 8.4).

6.7 Máy ly tâm hoặc dụng cụ lọc

6.7.1 Máy ly tâm, có các cốc to hoặc giá đỡ, có thể tạo được gia tốc $(350 \pm 50) g$ ở phần dưới của ống nghiệm, trong vòng ít nhất 2 min (xem 10.1).

Gia tốc này được tạo ra bằng ly tâm có bán kính hiệu lực (khoảng cách từ giữa tâm của trục máy ly tâm và phần cuối phía dưới của ống nghiệm) và thực hiện ở tần số quay được nêu trong bảng sau đây.

Bảng

Bán kính hiệu lực mm	Tần số quay min ⁻¹
240	1 140
245	1 130
250	1 120
255	1 110
260	1 100
265	1 090
270	1 080
275	1 070
300	1 020
325	980

CHÚ THÍCH Gia tốc ly tâm tương đối được tạo ra trong máy ly tâm được tính theo công thức sau đây:

$$1,12 r n^2 \times 10^{-6}$$

trong đó

r là bán kính nằm ngang hiệu lực, tính bằng milimet;

n là tần số quay, trên phút.

6.7.2 Thiết bị lọc

Có thể bằng cách lọc qua sợi thủy tinh, tốt nhất là đã silicon hoá, với áp suất nhẹ, để thay thế cho việc ly tâm. Cần phải kiểm tra rằng lượng thuốc thử hấp phụ lên bộ lọc là tối thiểu và không đổi đối với mọi diện tích bề mặt đã cho. Đối với áp suất đã cho, độ xốp của bộ lọc có thể cho phép hiệu chỉnh việc lọc các kết tủa hình thành bởi phức chất protein nhuộm (xem thêm 10.1).

6.8 Máy đo pH, có điện cực thủy tinh và một điện cực chuẩn thích hợp, cho phép đo pH chính xác đến 0,01 đơn vị pH.

6.9 Bình định mức một vạch, dung tích 100 ml, 1 000 ml, 2 000 ml và 3 000 ml.

6.10 Cân, có độ chính xác đến 0,001 g.

7 Lấy mẫu

Xem TCVN 6400 (ISO 707).

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

Đưa mẫu thử về nhiệt độ từ 20 °C đến 30 °C bằng cách đặt chai đựng mẫu vào nổi cách thủy, nếu cần.

Trộn kỹ mẫu sữa bằng cách đảo chiều nhẹ nhàng chai đựng mẫu ba đến bốn lần, không làm tạo bọt hoặc làm xáo trộn chất béo. Nếu gặp phải khó khăn trong việc làm phân tán lớp cream, hoặc nếu thấy có tạo kem nhẹ, thì làm ấm từ từ mẫu đến khoảng 35 °C đến 40 °C trên nổi cách thủy, lắc nhẹ; có thể sử dụng bộ đồng hoá mẫu để làm phân tán chất béo, nếu cần.

Nếu chất béo phân tán không đồng đều, thì đưa nhanh mẫu về nhiệt độ 20 °C. Để yên mẫu ít nhất một phút sau khi chỉnh nhiệt độ lần cuối để bọt khí thoát ra (không kéo dài thời gian vì có thể làm xáo trộn chất béo).

8.2 Phần mẫu thử

Dùng pipet hoặc xyranh (6.3) lấy 1 ml mẫu thử đã chuẩn bị (8.1) cho vào ống nghiệm hoặc máy ly tâm (6.1). Lắc nhẹ trong thời gian ngắn trước khi lấy bằng pipet.

8.3 Xác định

8.3.1 Dùng pipet hoặc xyranh (6.4) lấy 20 ml dung dịch đen amido chuẩn (5.2) cho vào phần mẫu thử, đậy ống, nếu cần và dùng tay để lắc lượng chứa bên trong ống 30 s bằng cách đưa lệch khỏi tâm khoảng 25 cm hoặc bằng máy lắc cơ học (6.5). Cách khác, sử dụng khí nén để trộn.

TCVN 7774:2007

8.3.2 Tháo nắp đậy nếu có và tách kết tủa protein bằng lọc hoặc ly tâm. Trong trường hợp ly tâm thì đặt ống vào máy ly tâm (6.7.1) và cho ly tâm ít nhất 2 min sau khi đạt được gia tốc tại đáy của ống là $(350 \pm 50) g$.

8.3.3 Đổ đầy dịch lỏng phía trên vào cuvet và đo độ hấp thụ sau khi đã chỉnh máy đo quang phổ (6.6) về độ hấp thụ zero dựa vào dung dịch so sánh chuẩn đen amido (5.3.1) ở bước sóng đã chọn (xem 6.6).

8.4 Dụng đường chuẩn

Lấy ít nhất 40 mẫu sữa khác nhau (nếu có thể thì lấy mẫu từ các con bò riêng lẻ) có hàm lượng protein tổng số dao động từ 2,5 % đến 4,5 % (phần khối lượng) hoặc lớn hơn (xem chú thích). Xác định hàm lượng protein của từng mẫu sử dụng phương pháp chuẩn (IDF Standard 20). Chỉnh các kết quả về việc bảo quản, nếu cần (xem 10.1).

Ngoài ra, dùng phương pháp mô tả ở trên để đo độ hấp thụ của dịch nổi phía trên thu được từ mỗi mẫu.

Dùng độ thị của hàm lượng protein thu được bằng phương pháp chuẩn theo độ hấp thụ. Nếu có bất kỳ sự sai lệch khỏi tuyến tính ở protein cao (độ hấp thụ thấp) cuối đường cong, thì bỏ các kết quả trong phép tính hồi qui. (Quy trình xác định các hàm lượng protein cao này được mô tả trong 10.2). Cũng bỏ qua các giá trị sai lệch nhiều, nghĩa là khi hàm lượng protein được xác định bằng phương pháp chuẩn sai khác quá hai lần độ lệch chuẩn (được suy ra từ việc tính phương trình hồi qui dưới đây) từ giá trị tương ứng của đồ thị.

Suy luận phương trình hồi qui về hàm lượng protein xác định được bằng phương pháp chuẩn (y) dựa vào độ hấp thụ (x) và dụng đồ đường chuẩn đối với y và x .

CHÚ THÍCH Các sản phẩm sữa xử lý nhiệt (thanh trùng và tiệt trùng) và sữa hoàn nguyên có thể cần đến các đường chuẩn khác nhau.

8.5 Dụng dịch so sánh chuẩn

Đồng thời với việc dụng đường chuẩn, đo độ hấp thụ của hai dung dịch so sánh chuẩn đã chuẩn bị trong 5.3.2 và 5.3.3 (xem chú thích trong 5.2.2).

8.6 Kiểm soát hiệu chuẩn

8.6.1 Các mẫu sữa kiểm chứng

Vì việc hiệu chuẩn có thể bị ảnh hưởng bởi sự biến đổi theo mùa của các phần nơ khác nhau trong sữa, do đó cần được kiểm tra thường xuyên. Việc này có thể thực hiện được bằng cách sử dụng ít nhất một mẫu đại diện từ một lượng sữa lớn (nghĩa là từ một lượng lớn sữa bò) của hàm lượng protein trung

binh, hoặc, tốt nhất là sử dụng hai mẫu như thế có hàm lượng protein cao và hàm lượng protein thấp, đã được xác định bằng phương pháp chuẩn Kjeldahl (IDF Standard 20).

8.6.2 Sử dụng mẫu sữa kiểm chứng

Phải lấy đủ các mẫu kiểm chứng bằng cách lấy mẫu đại diện từ các mẫu kiểm chứng sữa như 8.6.1. Có thể bổ sung các chất bảo quản (xem 10.1) vào các mẫu đại diện sao cho mẫu có thể được sử dụng trong một quãng thời gian mà giá trị hàm lượng protein chuẩn không bị thay đổi.

Mẫu hoặc các mẫu kiểm chứng cần thử nghiệm hai lần giống nhau trước mỗi ngày thử nghiệm mẫu. Thông thường, chúng phải được thực hiện sau mỗi dãy xác định ở tần số 1 trong 10, hoặc vào các khoảng định kỳ trong quá trình thử nghiệm liên tục để kiểm soát "độ trệch". Tương tự, cũng cần kiểm tra số đọc của máy đo quang phổ sử dụng các dung dịch so sánh chuẩn, các số đọc thang đo của máy đo quang phổ đã được xác định tại thời điểm hiệu chuẩn (xem 8.5 và 8.6.1).

9 Biểu thị kết quả

9.1 Phương pháp tính

Từ đường chuẩn (xem 8.4), từ độ hấp thụ đo được suy ra hàm lượng protein trong mẫu và biểu thị kết quả bằng gam protein trên 100 g mẫu. Hiệu chỉnh sự chênh lệch giữa "hàm lượng protein Kjeldahl" và hàm lượng protein đọc được từ đường chuẩn của các mẫu sữa kiểm chứng (8.6.1 và 8.6.2).

9.2 Độ lặp lại

Chênh lệch kết quả giữa hai phép xác định tiến hành liên tục nhanh, do một người thực hiện, không được vượt quá 0,03 g protein trên 100 g mẫu.

10 Trường hợp đặc biệt

10.1 Mẫu được bảo quản

Phương pháp này có thể áp dụng mà không cần sửa đổi, cho các mẫu đã được bảo quản bằng cách bổ sung từ 0,07 % đến 0,1 % (phần khối lượng) thủy ngân (II) clorua (qui định cho phép) hoặc từ 0,02 % đến 0,3 % (phần khối lượng) natri azit. Đối với các mẫu được bảo quản bằng kali dicromat 0,1 % (phần khối lượng) thì phương pháp này chỉ có thể áp dụng nếu thời gian tính từ lúc bổ sung dung dịch đen amido vào sữa và đến lúc lấy các số đọc quang phổ là rất ngắn, vì trường hợp này sử dụng phương pháp lọc (xem 6.7); không thể áp dụng qui trình ly tâm. Phương pháp này không thể áp dụng cho các mẫu được bảo quản bằng formaldehyt.

TCVN 7774:2007

Trong trường hợp bảo quản bằng các viên thuốc, thì thường khoảng 0,5 % (phần khối lượng) natri clorua. Điều này sẽ ảnh hưởng đến độ hấp thụ, các kết quả thu được bằng phương pháp Kjeldahl và cũng có thể cần phải hiệu chỉnh các kết quả. Nên suy hàm lượng protein từ đường chuẩn đặc thù thu được với các mẫu được bảo quản như vậy và dựa vào các kết quả thu được bằng phương pháp Kjeldahl đã hiệu chỉnh về bảo quản (ảnh hưởng pha loãng của viên thuốc, nitơ từ azit và thuốc nén).

10.2 Sự lệch khỏi đường tuyến tính trong đường chuẩn

Đối với các loại sữa có hàm lượng protein cao mà cho kết quả không nằm trong đường chuẩn tuyến tính thì tiến hành như sau:

Pha loãng một lượng nhất định mẫu sữa có hàm lượng protein cao với một thể tích tương tự của mẫu sữa có hàm lượng protein đã biết (dung dịch chuẩn hoặc dung dịch kiểm chứng), trộn đều và xác định hàm lượng protein của hỗn hợp theo 8.3 và 9.1.

Tính hàm lượng protein của mẫu có hàm lượng protein cao (w_1) từ hàm lượng protein của hỗn hợp (w_2) và hàm lượng protein của sữa chuẩn (w_3) bằng công thức sau đây:

$$w_1 = 2w_2 - w_3$$

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ phương pháp lấy mẫu đã sử dụng và kết quả thử nghiệm thu được.

Báo cáo thử nghiệm cũng phải bao gồm:

- hệ số đã sử dụng để thu được hàm lượng protein từ hàm lượng nitơ xác định được bằng phương pháp chuẩn (IDF Standard 20);
- mọi quan sát có thể cho thấy kết quả nghi ngờ về độ chính xác;
- mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;