Lời nói đầu

TCVN 6428:2007 thay thế TCVN 6428:1998;

TCVN 6428:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 5518:2007;

TCVN 6428:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F10 *Rau quả và sản phẩm rau quả* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Xuất bản lần 2

Rau, quả và sản phẩm rau, quả – Xác định hàm lượng axit benzoic – Phương pháp quang phổ

Fruits, vegetables and derived products – Determination of benzoic acid content – Spectrophotometric method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng axit benzoic trong rau, quả và sản phẩm rau quả.

Vì các axit clorơbenzoic là các chất chống oxi hoá nên phương pháp này không thể áp dụng khi có mặt axit *p*-clorobenzoic, vì phổ hấp thụ của axit này rất gần với phổ hấp thụ của axit benzoic. Phương pháp này cũng không thể sử dụng khi có mặt của axit xinamic, do oxi hoá axit cromic chuyển hoá thành axit benzoic.

CHÚ THÍCH Axit cromic được xác định theo axit benzoic trong phương pháp này nói chung chúng chỉ tồn tại ở dạng vết trong các loại rau và theo đó nó không ảnh hưởng đến kết quả thu được, ngoại trừ trong trường hợp vỏ cây quế có chứa một lượng lớn hơn.

2 Nguyên tắc

Mẫu thử được đồng hoá, sau đó được pha loãng và axit hoá phần mẫu thử. Axit benzoic được chiết bằng dietyl ete, rồi được chiết tiếp bằng kiềm và tinh chế bằng oxi hoá sử dụng kali dicromat đã axit hoá. Axit benzoic tinh sạch hoà tan trong dietyl ete được xác định bằng cách đo quang phổ.

3 Thuốc thử

Các thuốc thử được sử dụng phải thuộc loại phân tích và nước được sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

3.1 Axit tartric [$COOH(CHOH)_2COOH$], dạng tinh thể.

3.2 Natri hydroxit (NaOH), dung dịch khoảng 1 mol/l.

3.3 Kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$), dung dịch chứa 33 g/l đến 34 g/l.

3.4 Axit sulfuric loãng (H_2SO_4), thu được bằng cách pha loãng 2 phần thể tích axit sulfuric đậm đặc (ρ_{20} = 1,84 g/ml) với 1 phần thể tích nước.

3.5 Dietyl ete [$(CH_3CH_2)_2O$], mới chưng cất.

3.6 Axit benzoic (C_6H_5COOH), dung dịch chuẩn trong dietyl ete chứa 0,100 g/l.

3.7 Natri hydro cacbonat ($NaHCO_3$), dạng tinh thể.

4 Thiết bị, dụng cụ

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

4.1 Bình định mức, dung tích 50 ml và 1000 ml.

4.2 Cốc có mỏ, dung tích 50 ml và 100 ml.

4.3 Pipet chia vạch, dung tích 10 ml, 20 ml và 50 ml.

4.4 Bình, dung tích 250 ml, có nút thủy tinh mài và làm từ thủy tinh bosilicat.

4.5 Phễu chiết, dung tích 100 ml và 500 ml.

4.6 Đĩa bay hơi, đường kính khoảng 10 cm.

4.7 Nồi cách thuỷ, có thể kiểm soát được ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C.

4.8 Bộ đồng hoá hoặc **cối,** thích hợp.

4.9 Máy đo quang phổ dùng cho xác định trong vùng cực tím, được trang bị một máy đo đơn sắc có thể đo chính xác đến 0,5 nm, có các cuvet silic với chiều dài đường quang là 10 mm hoặc 20 mm (tốt nhất là 20 mm để tăng độ nhạy), có nút thủy tinh mài.

4.10 Cân phân tích.

5 Lấy mẫu

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

6 Cách tiến hành

6.1 Chuẩn bị mẫu thử

6.1.1 Sản phẩm dạng lỏng (ví dụ:nước ép quả, sản phẩm dạng lỏng có thịt quả, sirô)

Trộn kỹ mẫu phòng thử nghiệm.

6.1.2 Sản phẩm dạng sệt (ví dụ:mứt quả, mứt nhiễu)

Đồng hóa mẫu phòng thử nghiệm sau khi đã trộn kỹ mẫu.

6.1.3 Sản phẩm dạng rắn (ví dụ:quả, rau)

Cắt một phần mẫu phòng thử nghiệm thành các miếng nhỏ và loại bỏ hạt, cuống và các phần non, nếu cần. Đồng hóa cẩn thận khoảng 40 g mẫu.

6.1.4 Sản phẩm lạnh đông hoặc lạnh đông sâu

Cho sản phẩm lạnh đông hoặc lạnh đông sâu tan băng trong bình kín, bỏ hạt, cuống và các phần non, nếu cần, rồi trộn nước tan ra với sản phẩm và tiến hành theo 6.2.1, 6.2.2 hoặc 6.2.3.

6.2 Chuẩn bị phần mẫu thử

6.2.1 Sản phẩm dạng lỏng

Dùng pipet (4.3) lấy 20 ml mẫu thử (6.1) không chứa các thành phần lơ lửng, pha loãng với khoảng 50 ml nước và chuyển vào phễu chiết 500 ml (4.5) (phễu chiết A).

Phần mẫu thử cũng có thể được lấy theo khối lượng bằng cách cân khoảng 20 g mẫu thử, chính xác đến 0,01 g.

6.2.2 Sản phẩm dạng lỏng có thịt quả

Lấy 20 ml mẫu thử (6.1). Cho vào bộ đồng hoá hoặc cối (4.8) và pha loãng bằng 20 ml nước. Sau khi gạn, lọc dịch lỏng thu được.

Tiến hành hai lần liên tiếp, cho 20 ml nước vào phần cặn và sau khi gạn, lọc dịch lỏng thu được.

Thu lấy dịch lọc trực tiếp vào phễu chiết 500 ml (4.5) (phễu chiết A).

Có thể lấy mẫu thử theo khối lượng bằng cách cân khoảng 20 g mẫu thử, chính xác đến 0,01 g.

6.2.3 Sản phẩm dạng sệt hoặc rắn

Cân khoảng 10 g mẫu thử (6.1) chính xác đến 0,01 g và dùng khoảng từ 30 ml đến 40 ml nước để chuyển hết mẫu vào bình 250 ml (4.4).

Cho khoảng 50 mg natri hydro cacbonat (3.7) vào bình (xem chú thích). Lắc, sau đó đặt bình vào nồi cách thuỷ (4.7), duy trì nhiệt độ ở 70 °C đến 80 °C, và để yên trong 15 min đến 30 min. Lọc dịch chứa trong bình và tráng bình hai lần, mỗi lần sử dụng 15 ml đến 20 ml nước.

Thu toàn bộ dịch lọc vào phễu chiết 500 ml (4.5) (phễu chiết A). Để nguội.

CHÚ THÍCH Việc bổ sung natri hydro cacbonat nhằm trung hòa axit benzoic do vết của nó có thể bị mất do quá trình bay hơi.

6.3 Chiết axit benzoic

CẢNH BÁO – Cần chú ý các nguy hiểm khi sử dụng dietyl ete, đây là hợp chất rất dễ cháy, nổ và nguy hiểm.

6.3.1 Cho 1 g axit tartric (3.1) vào phễu phân tách A (4.5) có chứa phần mẫu thử đã pha loãng (6.2), thêm 60 ml dietyl ete (3.5) và lắc kỹ.

Để cho dung dịch phân lớp, sau đó thu lớp ete trong phễu chiết 500 ml (4.5) thứ hai (phễu chiết B).

Rửa pha lỏng trong phễu chiết thứ nhất (A) bằng 60 ml dietyl ete.

Để cho dung dịch phân lớp, sau đó thu lớp ete trong phễu chiết (B) có chứa lớp ete đầu tiên thu được.

Tiến hành tương tự với dịch chiết thứ ba với 30 ml dietyl ete và trộn lớp ete thu được với hai lớp ban đầu trong phễu chiết (B).

6.3.2 Chiết axit benzoic từ dung dịch ete bằng việc thêm lần lượt 10 ml và sau đó 5 ml dung dịch natri hydroxit (3.2), và tiếp theo là hai lần 10 ml nước. Sau mỗi lần thêm, lắc, rồi để phân lớp và thu pha lỏng.

Thu pha lỏng vào một đĩa bay hơi (4.6). Đặt đĩa vào nồi cách thuỷ (4.7), giữ nhiệt ở 70 °C đến 80 °C cho đến khi thể tích dung dịch kiềm giảm xuống khoảng một nửa, để loại bỏ dietyl ete hòa tan còn dư.

6.4 Tinh chế axit benzoic

Sau khi để nguội, rót dịch trong đĩa vào bình 250 ml (4.4) có chứa hỗn hợp của axit sulfuric loãng (3.4) và 20 ml dung dịch kali dicromat (3.3). Đậy nắp bình và để yên ít nhất 1 h.

Các chất bảo quản khác thu được từ axit benzoic có thể xuất hiện. Trong trường hợp này, để yên bình ít nhất 3 h để ôxi hóa hoàn toàn ba axit hydroxybenzoic và tránh gây nhiễu phép xác định. Việc tăng thêm thời gian phản ứng không ảnh hưởng gì, do axit benzoic chịu được hỗn hợp oxi hóa này.

Khi sản phẩm ban đầu cũng chứa axit sorbic, cần phải oxi hóa kéo dài đến 24 h để đảm bảo rằng đã phân hủy hoàn toàn axit này.

6.5 Chiết axit benzoic đã tinh chế

Chiết axit benzoic bằng cách xử lý dung dịch trên (6.4) hai lần với 20 ml đến 25 ml dietyl ete (3.5), thu dung dịch ete. Rửa dung dịch ete hai lần bằng vài mililit nước. Sau đó gạn thật cẩn thận, lọc qua giấy lọc khô và thu dịch lọc vào bình định mức 50 ml (4.1). Rửa giấy lọc với vài mililit dietyl ete, thêm dung môi rửa vừa đủ để pha loãng đến vạch.

6.6 Phương pháp xác định

Sử dụng máy đo quang phổ (4.9), đo độ hấp thụ của dung dịch ete (6.5) tương ứng với độ hấp thụ của dietyl ete tinh khiết ở bước sóng 267,5 nm, 272 nm và 276,5 nm (xem chú thích).

Độ hấp thụ tính theo axit benzoic trong công thức này đối với phương pháp so sánh ở bước sóng 272 nm là:

$$A_2 - \frac{A_1 + A_3}{2}$$

trong đó

A_1 là độ hấp thụ ở 267,5 nm;

A_2 là độ hấp thụ ở 272 nmm;

A_3 là độ hấp thụ ở 276,5 nm.

CHÚ THÍCH Kiểm tra phổ hấp thụ của dung dịch ete của axit benzoic đã tinh chế để nhận biết các tính chất của sản phẩm này qua sự có mặt của hai pic ở bước sóng 272 nm và 279 nm.

Axit benzoic đã chiết bằng dietyl ete được xác định bằng cách đo độ cao của các pic tương ứng ở bước sóng 272 nm đối với đường thẳng nối các điểm trên hệ trục tọa độ giữa bước sóng 267,5 nm và bước sóng 276,5 nm.

6.7 Số lần xác định

Tiến hành hai phép xác định trên cùng một mẫu thử (6.1).

6.8 Dựng đường chuẩn

Lấy lần lượt 5 ml, 7,5 ml, 10 ml, 12,5 ml, 15 ml và 20 ml dung dịch axit benzoic chuẩn (3.6) cho vào một dãy sáu bình định mức 50 ml (4.1). Pha loãng đến vạch bằng dietyl ete (3.5).

Dung dịch thu được chứa lần lượt 10 mg, 15 mg, 20 mg, 30 mg và 40 mg axit benzoic trên lít.

Vẽ đường cong mô tả các phép đo khác nhau theo hàm lượng axit benzoic được chỉ ra ở trên, tính bằng miligam trên lít.

7 Tính toán và biểu thị kết quả

7.1 Phần mẫu thử lấy bằng pipet

Hàm lượng axit benzoic, tính bằng miligam trên lít sản phẩm, được tính theo công thức:

$$m_2 \times \frac{50}{20} = 2{,}5m_2$$

trong đó m_2 là khối lượng của axit benzoic đọc được từ đường chuẩn (6.8), tính bằng miligam.

7.2 Phần mẫu thử lấy bằng cách cân

Hàm lượng axit benzoic, tính bằng miligam trên kilogam sản phẩm, theo công thức sau đây:

$$m_2 \times \frac{50}{m_1}$$

trong đó

m_1 là khối lượng của phần mẫu thử (6.2), tính bằng gam;

m_2 là khối lượng của axit benzoic đọc từ đường chuẩn (6.8), tính bằng miligam.

8 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp trên vật liệu thử giống hệt nhau trong cùng một phòng thử nghiệm do một người thực hiện sử dụng cùng thiết bị thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn không quá 5 % các trường hợp vượt quá 10 ml axit benzoic trên lít hoặc trên kilogam sản phẩm, tùy vào từng trường hợp cụ thể.

CHÚ THÍCH Phương pháp cho phép xác định lượng axit benzoic chính xác đến 2 mg khi sản phẩm chứa dưới 50 mg trên lít hoặc kilogam sản phẩm.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi 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 nghiệm đã dùng, viện dẫn tiêu chuẩn này;

d) mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tuỳ ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có thể ảnh hưởng đến kết quả;

e) kết quả thu được hoặc nếu đáp ứng được yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.