

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10025:2013

ISO 12779:2011

Xuất bản lần 1

**LACTOSE – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NƯỚC –
PHƯƠNG PHÁP KARL FISCHER**

Lactose – Determination of water content – Karl Fischer method

HÀ NỘI - 2013

Lời nói đầu

TCVN 10025:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 12779:2011;

TCVN 10025:2013 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
thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lactose - Xác định hàm lượng nước - Phương pháp Karl Fischer

Lactose - Determination of water content -Karl Fischer method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng nước trong lactose bằng phương pháp chuẩn độ Karl Fischer (KF).

2 Nguyên tắc

Mẫu thử được chuẩn độ trực tiếp bằng thuốc thử Karl Fischer hai thành phần có bán sẵn trên thị trường. Hàm lượng nước của phần mẫu thử được tính từ lượng thuốc thử đã sử dụng.

Việc chuẩn độ ở nhiệt độ gần 40 °C cho thời gian chuẩn độ ngắn hơn và thấy rõ hơn ở điểm kết thúc chuẩn độ. Nên sử dụng thuốc thử Karl Fischer một thành phần (3.1) ở nhiệt độ bằng hoặc cao hơn 40 °C.

3 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử loại tinh khiết phân tích và sử dụng nước cất, nước đã loại khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương, trừ khi có quy định khác. Tránh hấp thụ ẩm từ môi trường.

3.1 Thuốc thử Karl Fischer (KF)¹⁾, loại thuốc thử hai thành phần không chứa pyridin có bán sẵn trên thị trường, thuốc thử này gồm có một thành phần chuẩn độ (3.2) và một thành phần dung môi (3.3). Thành phần chuẩn độ (3.2) là dung dịch iot trong metanol và thành phần dung môi (3.3) là dung dịch sulfua dioxit trong metanol và một bazơ thích hợp (ví dụ: imidazon).

Cách khác, có thể sử dụng thuốc thử KF một thành phần chuẩn độ không chứa pyridin. Thành phần chuẩn độ (3.2) là dung dịch iot, sulfua dioxit và bazơ thích hợp (ví dụ: imidazon) trong dung môi thích hợp (ví dụ dietylen glycol monoetyl ete). Thành phần dung môi (3.3) là metanol (3.5). Chỉ kết hợp thuốc

¹⁾ Hydranal® - Titrant 2/Hydranal®-Solvent từ Sigma-Aldrich và apura® Titrant 2/Hydranal®-Solvent từ Merck là ví dụ về hệ thống hai thành phần có bán trên thị trường. Hydranal® -Composite 2 từ Sigma-Aldrich và apura® CombiTitrant 2 từ Merck là ví dụ về thuốc thử một thành phần có bán trên thị trường. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng các sản phẩm này.

TCVN 10025:2013

thử chuẩn độ một thành phần này và metanol khi thực hiện chuẩn độ ở nhiệt độ khoảng 40 °C hoặc cao hơn.

3.2 Thành phần chuẩn độ

Thành phần chuẩn độ của thuốc thử KF (3.1) phải có đương lượng nước xấp xỉ 2 mg/ml.

Thuốc thử KF có đương lượng nước khoảng 5 mg/ml cũng có thể thích hợp nếu thiết bị KF sử dụng buret dung tích 5 ml (4.1).

3.3 Thành phần dung môi

Thành phần dung môi của thuốc thử KF được quy định trong 3.1.

3.4 Chất chuẩn nước, $w(\text{H}_2\text{O}) = 10 \text{ mg/g}$.

Để xác định đương lượng nước của thành phần chuẩn độ, sử dụng chất chuẩn nước chứa hàm lượng nước 10 mg/g có bán sẵn trên thị trường.

3.5 Metanol (CH_3OH), với hàm lượng nước không lớn hơn 0,05 % khối lượng.

4 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể sau đây. Tất cả các dụng cụ phải khô hoàn toàn khi sử dụng.

4.1 Thiết bị Karl Fischer (KF)

Sử dụng thiết bị KF thể tích tự động, tốt nhất là có buret dung tích 10 ml.

Cần sử dụng buret 5 ml nếu thuốc thử KF chứa đương lượng nước khoảng 5 mg/ml (xem 3.2).

Để chuẩn độ nhanh hơn ở nhiệt độ khoảng 40 °C, sử dụng bình chuẩn độ hai lớp áo có đầu nước vào và đầu nước ra để thực hiện chuẩn độ.

4.2 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ nước ở $40 \text{ °C} \pm 5 \text{ °C}$ và kiểm soát được nhiệt độ, có trang bị bộ ổn nhiệt và bơm để làm nóng bình chuẩn độ hai lớp áo của thiết bị KF (4.1).

CHÚ THÍCH: Chỉ sử dụng nồi cách thủy có kiểm soát nhiệt độ nếu thực hiện chuẩn độ ở nhiệt độ cao hơn nhiệt độ phòng.

4.3 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg và có thể đọc được đến 0,1 mg.

4.4 Xyranh dùng một lần, dung tích 5 ml hoặc 10 ml để lấy chất chuẩn nước (3.4).

4.5 Thìa cân bằng thủy tinh, để lấy mẫu thử.

5 Lấy mẫu

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 hoặc vận chuyển.

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

6 Cách tiến hành

6.1 Độ lệch của thiết bị KF

6.1.1 Xác định độ lệch của thiết bị KF (4.1) hàng ngày và/hoặc khi thay đổi các điều kiện làm việc, như sau:

Trộn khoảng 30 ml thành phần dung môi (3.3) trong bình chuẩn độ của thiết bị KF (4.1). Chuẩn độ sơ bộ thành phần dung môi. Sau đó thực hiện chuẩn độ trên 5 min (không thêm mẫu thử).

Nếu việc xác định (6.5) được thực hiện ở nhiệt độ 40 °C, thì làm nóng bình cùng lượng chứa bên trong đến 40 °C trên nồi cách thủy (4.2) trước khi chuẩn độ sơ bộ thành phần dung môi và tiến hành chuẩn độ mà không bổ sung mẫu thử.

ĐIỀU QUAN TRỌNG: Trong mỗi lần chuẩn độ, lượng thành phần dung môi được sử dụng phải ngập hoàn toàn các điện cực của thiết bị KF.

6.1.2 Tính độ lệch của thiết bị KF, q_v , tính bằng mililit trên phút (ml/min), theo Công thức (1) sau đây:

$$q_v = \frac{V_d}{t} \quad (1)$$

Trong đó:

V_d là thể tích thành phần chuẩn độ (3.2) đã sử dụng trong quá trình chuẩn độ (6.1.1), tính bằng mililit (ml);

t là thời gian, tính bằng phút (min).

Hoặc tính độ lệch của thiết bị KF, q_m , tính bằng miligam nước trên phút (mg/min), theo Công thức (2) sau đây:

$$q_m = \frac{V_d \rho_e}{t} \quad (2)$$

trong đó ρ_e là đương lượng nước (6.2) của thành phần chuẩn độ (3.2), đã sử dụng trong chuẩn độ (6.1.1), tính bằng miligam nước trên mililit (mg/ml).

6.2 Đương lượng nước của thành phần chuẩn độ của thuốc thử KF

6.2.1 Chuẩn độ

Đối với mỗi phép xác định, để tính chính xác đương lượng nước của thành phần chuẩn độ, ρ_e , tiến hành chuẩn độ như trong điều này và bước tính toán (6.2.2) năm lần.

Cho khoảng 30 ml thành phần dung môi (3.3) vào trong bình chuẩn độ của thiết bị KF (4.1) (xem thêm 6.1.1) và chuẩn độ sơ bộ thành phần dung môi.

CHÚ THÍCH: Đương lượng nước của thành phần chuẩn độ không phụ thuộc vào nhiệt độ. Do đó không cần phải làm nóng sơ bộ bình chuẩn độ đối với phép xác định đương lượng nước. Nếu phép xác định (6.5) được tiến hành ở 40 °C, thì đương lượng nước cũng có thể được xác định ở 40 °C. Khi đó, bình và lượng chứa bên trong được làm nóng đến 40 °C trong nồi cách thủy (4.2) trước khi chuẩn độ.

Sử dụng xyranh dùng một lần (4.4) lấy từ 0,6 g đến 0,9 g chất chuẩn nước (3.4) (tương ứng với khoảng 6 mg đến 9 mg nước). Cân xyranh cùng với chất chuẩn nước, ghi lại khối lượng chính xác đến 0,1 mg.

Cũng có thể lấy nhiều hơn 0,6 g đến 0,9 g chất chuẩn nước và sử dụng cùng lượng chứa trong xyranh đối với vài lần chuẩn độ, nhưng các lần chuẩn độ cần thực hiện liên tục. Trong trường hợp này, có thể sử dụng khoảng 0,6 g đến 0,9 g chất chuẩn nước đối với mỗi lần chuẩn độ, mỗi lần cần tính chính xác bằng cách cân xyranh và lượng chứa bên trong còn lại sau mỗi lần bơm.

CHÚ THÍCH: Chỉ có các phòng thử nghiệm rất có kinh nghiệm có thể sử dụng lượng nhỏ (khoảng một giọt lấy từ xyranh) nước tinh khiết thay cho chất chuẩn nước bán sẵn. Ngay cả sai số một lượng cân rất nhỏ cũng có thể cho kết quả sai lệch 100%.

Cho lượng chất chuẩn nước trong xyranh vào bình chuẩn độ. Cân lại xyranh rỗng và ghi lại khối lượng chính xác đến 0,1 mg. Lấy khối lượng của xyranh cùng với chất chuẩn nước trước khi cho chất chuẩn nước vào bình chuẩn độ, trừ đi khối lượng của xyranh rỗng để thu được khối lượng thực của chất chuẩn nước đã cho vào bình chuẩn độ. Ghi lại khối lượng lượng thực, m_{H_2O} , của chất chuẩn nước đã bổ sung cho mỗi lần chuẩn độ, chính xác đến 0,1 mg, ($i = 1 \dots 5$).

Tiến hành chuẩn độ trong khi sử dụng thời gian dừng trễ 10 s nêu trong 6.3. Ghi lại thể tích của thành phần chuẩn độ đã sử dụng, V_{ρ_e} , tính bằng millilit, với $i = 1 \dots 5$.

Không thực hiện quá ba lần chuẩn độ trên một phần của thành phần dung môi.

Sau ba lần chuẩn độ trên một phần thành phần dung môi, làm rỗng bình chuẩn độ và thực hiện các lần chuẩn độ tiếp theo bằng cách cho khoảng 30 ml thành phần dung môi vào bình chuẩn độ của thiết bị KF, chuẩn độ sơ bộ thành phần dung môi và tiến hành tiếp như trên.

6.2.2 Tính kết quả

Tính đương lượng nước của thành phần chuẩn độ, $\rho_{e,i}$, tính bằng miligam nước trên mililit (mg/ml), theo Công thức (3) sau đây:

$$\rho_{e,i} = \frac{m_{H_2O} W_{H_2O,s}}{V_{\rho_{e,i}}} \quad (3)$$

Trong đó:

m_{H_2O} là khối lượng của chất chuẩn nước đã dùng để chuẩn độ trong lần thứ i (6.2.1), tính bằng gam (g);

$W_{H_2O,s}$ là phần khối lượng nước của chất chuẩn nước, tính bằng miligam trên gam (mg/g);

$V_{\rho_{e,i}}$ là thể tích thành phần chuẩn độ (3.2) trong lần chuẩn độ trong lần thứ i (6.2.1), tính bằng mililit (ml).

6.2.3 Giá trị trung bình

Tính đương lượng nước của thành phần chuẩn độ, ρ_e , theo giá trị trung bình của năm lần ($i = 1 \dots 5$) chuẩn độ riêng rẽ (6.2.1), bằng miligam nước trên mililit, theo Công thức (4) sau đây:

$$\rho_e = \frac{\sum_{i=1}^5 \rho_{e,i}}{5} \quad (4)$$

6.2.4 Biểu thị đương lượng nước

Biểu thị giá trị (trung bình) đương lượng nước của thành phần chuẩn độ đến ba chữ số thập phân.

6.3 Thời gian dừng trễ

Tùy thuộc vào thiết bị được sử dụng, thời gian dừng trễ, so với điểm dừng là 10 s hoặc độ lệch của thời gian dừng cao hơn độ lệch đo được (6.1).

6.4 Chuẩn bị mẫu thử

Đồng hóa mẫu thử bằng cách trộn kỹ mẫu bột.

6.5 Xác định

Cho khoảng 30 ml thành phần dung môi (3.3) vào bình chuẩn độ của thiết bị KF (4.1). Nếu sử dụng thuốc thử KF một thành phần (3.1) hoặc muốn thời gian chuẩn độ ngắn hơn, thì làm nóng bình chuẩn độ cùng lượng chứa bên trong nồi cách thủy (4.2) đến khoảng 40 °C.

TCVN 10025:2013

Lấy khoảng 0,3 g mẫu thử (6.4) vào thìa cân thủy tinh (4.5). Cân thìa cùng với mẫu thử, ghi lại khối lượng chính xác đến 0,1 mg.

Cho phần mẫu thử vào bình chuẩn độ bằng cách mở và đóng nhanh nắp đáy. Cân lại thìa cân rỗng và ghi lại khối lượng chính xác đến 0,1 mg. Lấy khối lượng của thìa chứa mẫu thử trừ đi khối lượng của thìa để thu được khối lượng phần mẫu thử thực, m , ghi lại khối lượng thực chính xác đến 0,1 mg.

Tiến hành chuẩn độ và ghi lại thể tích của thành phần chuẩn độ, V , tính bằng mililit. Không thực hiện quá hai lần chuẩn độ trên một phần thành phần dung môi.

Nếu bộ chuẩn độ không tự động tính kết quả (xem 7.1) thì ghi lại thời gian chuẩn độ, t .

Nên thực hiện vài phép thử lặp lại đối với mỗi mẫu để thu được kết quả chính xác hơn. Trong trường hợp này, ghi lại khối lượng từng phần mẫu thử m_i , lượng thành phần chuẩn độ V_i và thời gian chuẩn độ t_i .

7 Tính và biểu thị kết quả

7.1 Tính kết quả

Có thể sử dụng bộ chuẩn độ có tính toán tự động phù hợp, nếu có sẵn.

7.1.1 Tính hàm lượng nước của mẫu thử, w_{H_2O} , bằng phần trăm khối lượng, theo Công thức (5) hoặc Công thức (6) sau đây:

$$w_{H_2O} = \frac{(V - q_v t) \rho_e}{m} \times 100 \% \quad (5)$$

hoặc

$$w_{H_2O} = \frac{V \rho_e - q_m t}{m} \times 100 \% \quad (6)$$

Trong đó:

V là thể tích thành phần chuẩn độ (6.5), tính bằng mililit (ml);

q_v là giá trị của độ lệch (6.1.2), tính bằng mililit trên phút (ml/min);

q_m là giá trị của độ lệch (6.1.2), tính bằng miligam nước trên phút (mg/min);

t là thời gian chuẩn độ (6.5), tính bằng phút (min);

ρ_e là đương lượng nước của thành phần chuẩn độ (6.2.3), tính bằng miligam nước trên mililit (mg/ml);

m là khối lượng của phần mẫu thử (6.5), tính bằng miligam (mg).

7.1.2 Nếu n là số lần thực hiện lặp lại đối với một mẫu thử thì tính hàm lượng nước riêng của mẫu thử, $w_{H_2O,i}$, đối với từng lần lặp lại thứ i , bằng phần trăm khối lượng, theo Công thức (7) hoặc Công thức (8):

$$w_{H_2O,i} = \frac{(V_i - q_v t_i) \rho_e}{m_i} \times 100 \% \quad (7)$$

$$w_{H_2O,i} = \frac{V_i \rho_e - q_m t_i}{m_i} \times 100 \% \quad (8)$$

Trong đó:

V_i là thể tích của thành phần chuẩn độ đối với lần lặp lại thứ i (6.5), tính bằng mililit (ml);

t_i là thời gian chuẩn độ đối với lần lặp lại thứ i (6.5), tính bằng phút (min);

m_i là khối lượng phần thử trong lần lặp lại thứ i (6.5), tính bằng miligam (mg);

i là số thứ tự của lần lặp lại, với $i = 1 \dots n$.

7.1.3 Tính giá trị trung bình của hàm lượng nước của mẫu thử, \bar{w}_{H_2O} , đối với n lần lặp lại, biểu thị bằng phần trăm khối lượng, theo Công thức (9):

$$\bar{w}_{H_2O} = \frac{\sum_{i=1}^n w_{H_2O,i}}{n} \quad (9)$$

7.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị các kết quả đến hai chữ số thập phân.

8 Độ chụm

8.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các giá trị về độ lặp lại và độ tái lập thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này được đánh giá phù hợp với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[2] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[3].

TCVN 10025:2013

Các giá trị về độ lặp lại và độ tái lập được tính ở mức xác suất 95 % và có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và các chất nền khác với các giá trị đã nêu. Chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm⁽⁴⁾ về độ chụm của phương pháp được đưa ra trong Phụ lục A.

8.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ, độc lập thu được, khi sử dụng cùng phương pháp thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, do cùng một người phân tích, sử dụng cùng một thiết bị, tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,15 %.

8.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ 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 0,16 %.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- 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) kết quả thử nghiệm thu được;
- f) 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

Phép thử liên phòng quốc tế gồm 15 phòng thử nghiệm thực hiện trên tám mẫu (bốn mẫu mù lặp lại hai lần) lactose được tổ chức thực hiện ở Đức. Ba phòng thử nghiệm không tuân theo hướng dẫn và hai phòng thử nghiệm cho thấy có khác biệt nhiều so với các phòng thử nghiệm khác, trong đó một phòng cho độ lệch lặp lại cao, một phòng cho độ lệch lớn và kết quả của các phòng thử nghiệm này không được đưa vào đánh giá thống kê. Độ đồng đều quan sát được về các giá trị độ chụm riêng rẽ cho phép khuyến cáo sử dụng các giá trị độ chụm trung bình (tổng thể) $r = 0,15$ g/100 g và $R = 0,16$ g/100 g.

Bảng A.1 nêu các kết quả đã gộp đối với các mẫu giống nhau. Các giá trị được tính theo các giá trị trung bình của các mẫu độc lập do từng phòng thử nghiệm báo cáo.

Bảng 1 – Kết quả đã gộp của phép thử liên phòng trên các mẫu thử giống hệt nhau

Thông số	Mẫu				Trung bình
	1 và 4	2 và 7	3 và 6	5 và 8	
Số lượng phòng thử nghiệm sau khi trừ ngoại lệ	10	10	10	10	–
Giá trị trung bình, %	4,805	5,100	5,140	5,022	–
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , %	0,053	0,045	0,062	0,049	0,053
Hệ số biến thiên lặp lại, %	1,1	0,9	1,2	1,0	1,0
Giới hạn lặp lại, $r = 2,8 s_r$, %	0,148	0,125	0,174	0,137	0,147
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , %	0,060	0,045	0,065	0,059	0,058
Hệ số biến thiên tái lập, %	1,2	0,9	1,3	1,2	1,1
Giới hạn tái lập, $R = 2,8 s_R$, %	0,168	0,125	0,182	0,164	0,161

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*
- [2] 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.*
- [3] 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.*
- [4] ISENGARD, H.-D. HASCHKA, E., MERKH, G. Lactose – Determination of water content by Karl Fischer titration – Interlaboratory collaborative study. *Bull. Int. Dairy Fed.*2011, (450).
-