

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9935:2013
ISO 10520:1997

Xuất bản lần 1

TINH BỘT TỰ NHIÊN – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
TINH BỘT – PHƯƠNG PHÁP ĐO ĐỘ PHÂN CỰC EWERS

Native starch – Determination of starch content – Ewers polarimetric method

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 9935:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 10520:1997;

TCVN 9935:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F18 Đường, mật ong và sản phẩm tinh bột biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Tinh bột tự nhiên - Xác định hàm lượng tinh bột - Phương pháp đo độ phân cực Ewers

Native starch - Determination of starch content - Ewers polarimetric method

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp đo độ phân cực để xác định hàm lượng tinh bột trong tinh bột tự nhiên, trừ tinh bột hàm lượng amyloza cao.

Tiêu chuẩn này không áp dụng cho tinh bột biến tính hoặc tinh bột đã hồ hóa sơ bộ (hòa tan trong nước).

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 4851:1992 (ISO 3696:1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*

TCVN 9934:2013 (ISO 1666:1996), *Tinh bột – Xác định độ ẩm – Phương pháp dùng tủ sấy*

3 Nguyên tắc

Phương pháp gồm có hai phép xác định trung gian.

3.1 Phần mẫu thử thứ nhất được thủy phân bằng axit clohydric loãng, sau khi làm trong và lọc, dùng phép đo độ phân cực để đo độ quay cực của dịch lọc.

3.2 Phần mẫu thử hai được xử lý bằng etanol 40 % (thể tích) để chiết các đường hòa tan và các polysaccarit có khối lượng phân tử thấp. Sau đó dịch lọc được thực hiện theo qui trình trong 3.1.

Chênh lệch giữa các lần đo trong 3.1 và 3.2, được nhân với hệ số để thu được hàm lượng tinh bột của mẫu.

TCVN 9935:2013

CHÚ THÍCH Các thông số chính của phương pháp là thời gian, nhiệt độ thủy phân, việc sử dụng và hiệu chuẩn đúng máy đo độ phân cực. Do đó, phương pháp này cần tính đến việc khuấy trộn ổn định trong nồi cách thủy, nồi cách thủy cần có kích cỡ phù hợp để đảm bảo tăng nhanh nhiệt độ và ổn định nhiệt độ.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích. Sử dụng nước loại 2 nêu trong TCVN 4851 (ISO 3696), trừ khi có các qui định khác.

4.1 Axit clohydric loãng, $c(\text{HCl}) = 7,7 \text{ mol/l}$.

Pha loãng 63,7 ml axit clohydric ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) bằng nước đến 100 ml.

4.2 Axit clohydric loãng, $c(\text{HCl}) = 0,309 \text{ mol/l}$.

Pha loãng 25,6 ml axit clohydric ($\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$) bằng nước đến 1 000 ml.

CHÚ THÍCH Nồng độ phải được kiểm tra xác nhận, sử dụng dung dịch natri hydroxit [$c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$] và đỏ metyl làm chất chỉ thị: 10 ml HCl tiêu tốn 30,94 ml NaOH 0,1 mol/l.

4.3 Etanol loãng, 40 % (thể tích) ($\rho_{20} = 0,948 \text{ g/ml}$)

4.4 Dung dịch Carrez I

Hòa tan 10,6 g kali hexacyanoferrat(II) ngậm ba phân tử nước [$\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$] vào nước. Pha loãng bằng nước đến 100 ml.

4.5 Dung dịch Carrez II

Hòa tan 21,9 g kẽm axetat ngậm hai phân tử nước [$\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] và 3 g axit axetic băng vào nước. Pha loãng bằng nước đến 100 ml.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Bình định mức, dung tích 100 ml.

5.2 Nồi cách thủy đun sôi có bộ phận lắc, hoặc nồi cách thủy đun sôi được trang bị bộ khuấy từ.

5.3 Máy đo độ phân cực, được chỉnh đến bước sóng 589,3 nm, có các ống đo dài 200 mm.

5.4 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,001 g.

6 Chuẩn bị mẫu thử

Nếu cỡ hạt của mẫu phòng thử nghiệm vượt quá 0,5 mm thì nghiền mẫu sao cho lọt hết qua sàng cỡ lỗ 0,5 mm. Đồng hóa mẫu.

7 Cách tiến hành

Tiến hành cân mẫu chính xác đến 0,001 g (xem 5.4)

7.1 Xác định độ quay cực tổng số

7.1.1 Cân 2,5 g \pm 0,05 g (m_1) mẫu thử rồi chuyển vào bình định mức (5.1). Thêm 25 ml axit clohydric loãng (4.2) và khuấy để mẫu được phân bố đồng đều. Thêm tiếp 25 ml axit clohydric loãng (4.2).

7.1.2 Ngâm bình trong nồi cách thủy đang sôi (5.2) và lắc liên tục hoặc ngâm bình trong nồi cách thủy đun sôi được trang bị bộ khuấy từ và khuấy ở tốc độ nhỏ nhất.

7.1.3 Để bình 15 min \pm 5 s trong nồi cách thủy đun sôi và ngừng lắc hoặc khuấy trong khoảng thời gian ngắn trước khi lấy bình ra. Thêm ngay 30 ml nước lạnh và làm nguội nhanh dưới dòng nước đến 20 °C \pm 2 °C.

7.1.4 Thêm 5 ml dung dịch Carrez I (4.4) và lắc trong 1 min.

7.1.5 Thêm 5 ml dung dịch Carrez II (4.5) và lắc trong 1 min.

7.1.6 Pha loãng bằng nước đến vạch. Đồng hóa rồi lọc dung dịch qua phễu lọc và giấy lọc thích hợp. Nếu dịch lọc không hoàn toàn trong thì lặp lại các thao tác, sử dụng mỗi loại dung dịch Carrez 10 ml.

7.1.7 Đo độ quay cực (α_1) của dung dịch trong ống 200 mm bằng máy đo độ phân cực (5.3).

7.2 Xác định độ quay cực của các chất hòa tan trong etanol 40 % (thể tích)

7.2.1 Cân 5 g \pm 0,1 g (m_2) mẫu rồi chuyển vào bình định mức 100 ml (5.1). Thêm khoảng 80 ml dung dịch etanol (4.3). Để yên bình 1 h ở nhiệt độ phòng; trong khoảng thời gian này, lắc mạnh sáu lần để đảm bảo trộn kỹ mẫu thử với etanol. Thêm etanol (4.3) đến 100 ml, đồng hóa rồi lọc.

7.2.2 Dùng pipet lấy 50 ml dịch lọc (tương đương với 2,5 g phần mẫu thử) vào bình định mức (5.1). Thêm 2,1 ml axit clohydric loãng (4.1) và lắc mạnh.

Lắp sinh hàn hồi lưu vào bình định mức và ngâm bình định mức trong nồi cách thủy đun sôi.

Lấy bình định mức ra khỏi nồi cách thủy sau 15 min \pm 5 s.

Để nguội đến 20 °C \pm 2 °C.

TCVN 9935:2013

7.2.3 Dùng dung dịch Carrez I và Carrez II để làm trong dung dịch như trong 7.1.4 và 7.1.5 rồi tiến hành tiếp như trong 7.1.6.

7.2.4 Đo độ quay cực (α_2) của dung dịch như trong 7.1.7.

7.3 Xác định hàm lượng chất khô

Xác định độ ẩm của mẫu thử, w_0 , theo phương pháp nêu trong TCVN 9934 (ISO 1666). Sau đó, tính hàm lượng chất khô, w_1 , của mẫu thử, dùng công thức sau đây:

$$w_1 = 100 - w_0$$

8 Biểu thị kết quả

Tính hàm lượng tinh bột của mẫu thử tính theo chất khô, w , bằng phần trăm khối lượng, sử dụng công thức sau đây:

$$w = \frac{2000}{\alpha_D^{20}} \times \left[\frac{2,5\alpha_1}{m_1} - \frac{5\alpha_2}{m_2} \right] \times \frac{100}{w_1}$$

Trong đó

α_1 là độ quay cực tổng số đo được trong 7.1, tính bằng độ;

α_2 là độ quay cực của chất hòa tan trong etanol đo được trong 7.2, tính bằng độ;

m_1 là khối lượng phần mẫu thử trong 7.1.1, tính bằng gam (g);

m_2 là khối lượng phần mẫu thử trong 7.2.1, tính bằng gam (g);

w_1 là hàm lượng chất khô của mẫu thử được xác định trong 7.3, tính theo phần trăm khối lượng;

α_D^{20} là độ quay cực đặc trưng của tinh bột tinh khiết đo được ở bước sóng 589,3 nm, tính bằng độ. (Xem Bảng 1).

Bảng 1 – Độ quay cực đặc trưng của tinh bột tinh khiết

Loại tinh bột	Độ quay cực α_D^{20} (độ)
Tinh bột gạo	+ 185,9
Tinh bột khoai tây	+ 185,7
Tinh bột ngô	+ 184,6
Tinh bột mì	+ 182,7
Tinh bột lúa mạch	+ 181,5
Tinh bột yến mạch	+ 181,3
Các loại tinh bột và hỗn hợp tinh bột khác	+ 184,0

Làm tròn kết quả đến một chữ số thập phân.

9 Độ chụm

Độ chụm của phương pháp được thiết lập bởi phép thử liên phòng thử nghiệm do nhóm công tác ISO/TC 93/WG 1, *Xác định hàm lượng tinh bột*, tổ chức vào năm 1990 và được tiến hành phân tích thống kê theo ISO 5725 [1]. Trong phép thử này, có 12 phòng thử nghiệm đã tham gia. Các mẫu được nghiên cứu gồm có tinh bột ngô, tinh bột khoai tây và tinh bột mì. Các kết quả thống kê được nêu trong Phụ lục A.

9.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử nghiệm độc lập, đơn lẻ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong một phòng thử nghiệm, do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá giới hạn lặp lại, nêu trong Bảng 2 đối với các loại tinh bột được liệt kê.

9.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá giới hạn tái lập, nêu trong Bảng 2 đối với các loại tinh bột được liệt kê.

Bảng 2 - Giới hạn lặp lại và giới hạn tái lập

Loại tinh bột	Giới hạn lặp lại r % (khối lượng)	Giới hạn tái lập R % (khối lượng)
Tinh bột ngô	2,2	4,8
Tinh bột khoai tây	1,0	7,7
Tinh bột bột mì	2,0	3,5
Tinh bột ngô nếp	1,4	8,2

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải chỉ rõ:

- phương pháp đã sử dụng;
- kết quả thử nghiệm thu được, và
- nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Báo cáo thử nghiệm cũng đề cập đến mọi chi tiết thao tác không qui 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 thử nghiệm.

Báo cáo thử nghiệm cũng bao gồm mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Phương pháp Ewers – Nghiên cứu cộng tác năm 1990

Nghiên cứu cộng tác

Các giá trị tính được đối với độ lệch chuẩn tương đối tái lập (RSD_R) hoặc hệ số biến thiên tái lập, có liên quan đến mức nồng độ, có thể so sánh với các giá trị nêu trong Bảng tài liệu tham khảo của Pocklington [4]. Công thức được đưa ra theo kinh nghiệm của Horwitz qua việc kiểm tra hơn 3 000 nghiên cứu cộng tác (thực hiện phương pháp).

$$RSD_R = 2^{(1 - 0,5 \lg c)}$$

Trong đó c là nồng độ được biểu thị theo phân số thập phân.

Từ công thức này, khi $c = 1$ thì $RSD_R = 2 \%$

Khi các giá trị RSD_R nằm trong dải từ 1 đến 4, ở nồng độ này thì độ chụm có thể được chấp nhận đối với các phòng thử nghiệm thực hiện phương pháp.

Độ lệch chuẩn tương đối trong các phòng thử nghiệm (độ lặp lại) RSD , thường từ một phần hai đến hai phần ba RSD_R .

Trong Bảng A.1, các giá trị đối với RSD_R trong dải từ 1,25 % đến 3,24 %.

Bảng A.1 – Các giá trị đối với dải RSD_R từ 1,25 % đến 3,24 %

Thông số	Ngô	Khoai tây	Lúa mì	Ngô nếp	Ngô 95/ chất trợ lọc 5	Bột mì 90/ Dextroza 10	Khoai tây 85/ Muối 15
Số lượng các phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	12	11	12	11	11	12	12
Số lượng phòng thử nghiệm ngoại lệ	-	1	-	1	1	-	-
Số lượng các kết quả được chấp nhận	24	22	24	22	22	24	24
Giá trị trung bình [% (khối lượng)]	98,2	100,0	99,0	100,0	92,7	88,9	82,2
Giá trị đúng hoặc giá trị được chấp nhận [% (khối lượng)]	98,9	99,7	99,0	99,7	93,3	89,1	85,0
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r [% (khối lượng)]	0,79	0,35	0,71	0,48	0,63	0,55	1,54
Hệ số biến thiên lặp lại (%)	0,80	0,30	0,71	0,48	0,68	0,62	1,87
Giới hạn lặp lại, $r = 2,8 \times s_r$ [% (khối lượng)]	2,22	0,98	2,00	1,37	1,78	1,57	4,34
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R [% (khối lượng)]	1,69	2,73	1,24	2,90	1,17	1,95	2,66
Hệ số biến thiên tái lập (%)	1,71	2,73	1,25	2,90	1,27	2,19	3,24
Giới hạn tái lập, $R = 2,8 \times s_R$ [% (khối lượng)]	4,77	7,72	3,50	8,20	3,33	5,52	7,53

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] ISO 5725:1986, *Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests (bây giờ đã hủy)*, được dùng để thu lấy dữ liệu độ chụm.
- [2] 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.*
- [3] 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 và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.*
- [4] International Union of pure and applied chemistry, harmonised protocol for the adoption of standardized analytical methods and for the presentation of their performance characteristics. *J. Pure Appl. Chem.*, 62, No 01, 1990, p.152.
-