

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8099-3 : 2009

ISO 8968-3 : 2004

Xuất bản lần 1

**SỮA XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ –
PHẦN 3: PHƯƠNG PHÁP PHÂN HUỶ KÍN
(PHƯƠNG PHÁP THÔNG DỤNG NHANH SEMI-MACRO)**

*Milk – Determination of nitrogen content –
Part 3: Block digestion method (Semi-micro rapid routine method)*

HÀ NỘI – 2009

Lời nói đầu

TCVN 8099-3 : 2009 hoàn toàn tương đương với ISO 8968-3 : 2004;

TCVN 8099-3 : 2009 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 đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 8099 (ISO 8968) Sữa – Xác định hàm lượng nitơ, gồm các phần sau đây :

- TCVN 8099-1 : 2009 (ISO 8968-1 : 2001), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 1: Phương pháp Kjeldahl;
- TCVN 8099-2 : 2009 (ISO 8968-2 : 2001), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 2: Phương pháp phân huỷ kín (Phương pháp Macro);
- TCVN 8099-3 : 2009 (ISO 8968-3 : 2004), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 3: Phương pháp phân huỷ kín (Phương pháp thông dụng nhanh Semi-macro);
- TCVN 8099-4 : 2009 (ISO 8968-3 : 2001), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 4: Phương pháp xác định hàm lượng nitơ phi protein;
- TCVN 8099-5 : 2009 (ISO 8968-3 : 2001), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 5: Phương pháp xác định hàm lượng nitơ protein.

Sữa – Xác định hàm lượng nitơ – Phần 3: Phương pháp phân huỷ kín (Phương pháp thông dụng nhanh Semi-macro)

Milk – Determination of nitrogen content –

Part 3: Block digestion method (Semi-micro rapid routine method)

CẢNH BÁO – Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng nitơ trong sữa nguyên chất hoặc sữa gầy dạng lỏng.

Tiêu chuẩn này đề cập đến phương pháp nhanh thường xuyên bán vi lượng theo nguyên tắc phân huỷ kín.

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 7149-1 (ISO 385-1), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Buret – Phần 1: Yêu cầu chung.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Hàm lượng nitơ (nitrogen content)

Phần khối lượng của nitơ xác định được bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Hàm lượng nitơ được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

4 Nguyên tắc

Phân mẫu thử được phân hủy bằng thiết bị phân hủy kín với hỗn hợp của axit sulfuric đậm đặc, hydro peroxit và kali sulfat, cùng với chất xúc tác để chuyển nitơ hữu cơ có mặt về amoni sulfat. Một lượng dư natri hydroxit được bổ sung vào dịch phân hủy nguội để giải phóng amoniac.

Lượng amoniac giải phóng được chưng cất bằng hơi nước, sử dụng thiết bị chưng cất hơi nước tự động, bán tự động hoặc thủ công. Trong trường hợp chưng cất bán tự động hoặc chưng cất thủ công, thì amoniac được chưng cất vào trong dung dịch axit boric dư và sau đó chuẩn độ bằng axit clohydric. Khi dùng thiết bị chưng cất tự động hoàn toàn thì việc chuẩn độ amoniac được tiến hành tự động sử dụng hệ thống pH hoặc so màu để phát hiện điểm kết thúc. Hàm lượng nitơ tính được từ lượng amoniac tạo thành.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, nước cất hoặc nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương trừ khi có qui định khác.

5.1 Viên xúc tác Kjeldahl

Các viên này có thể có bán sẵn trên thị trường. Mỗi viên này có chứa 3,5 g kali sulfat, 0,105 g đồng (II) sulfat ngâm năm phần tử nước và 0,105 g titan dioxit được coi là thích hợp.

Các dạng viên khác có thể được sử dụng với điều kiện là:

- có chứa một lượng kali sulfat sao cho các viên này có chứa 7 g kali sulfat và
- không chứa các muối của kim loại độc hại như selen hoặc thủy ngân.

5.2 Axit sulfuric (H_2SO_4), ít nhất là 95 % đến 98 % phần khối lượng, không chứa nitơ [$\rho_{20}(H_2SO_4) = 1,84 \text{ g/ml}$].

5.3 Dung dịch hydro peroxit (H_2O_2), khoảng 30 g H_2O_2 /100 ml.

5.4 Chất chống tạo bọt

Khuyến cáo sử dụng chế phẩm silicon, ví dụ như dung dịch nhũ tương 30 % phần khối lượng.

5.5 Dung dịch natri hydroxit (NaOH), không chứa nitơ, chứa 40 g natri hydroxit trên 100 g dung dịch.

5.6 Dung dịch axit boric

5.6.1 Dung dịch axit boric, $c(\text{H}_3\text{BO}_3) = 40,0 \text{ g/l}$.

Hoà tan 40,0 g axit boric trong 1 l nước nóng đựng trong bình định mức một vạch 1 000 ml. Để bình đựng dung dịch này nguội đến 20 °C. Thêm 3 ml dung dịch chất chỉ thị (5.7.1). Thêm nước đến vạch và trộn đều.

Bảo quản dung dịch trong chai thủy tinh borosilicat, dung dịch này sẽ có màu cam nhạt. Trong quá trình bảo quản dung dịch cần tránh ánh sáng và các nguồn hơi amoniac.

5.6.2 Dung dịch axit boric, $c(\text{H}_3\text{BO}_3) = 10,0 \text{ g/l}$, sử dụng trong chuẩn độ điểm kết thúc bằng so màu.

Hoà tan 10,0 g axit boric trong 1 l nước nóng đựng trong bình định mức một vạch dung tích 1 000 ml. Để bình đựng dung dịch này nguội đến 20 °C. Thêm 7 ml dung dịch chất chỉ thị đỏ metyl (5.7.2) và 10 ml dung dịch xanh bromocresol (5.7.2) và trộn đều.

Pha loãng bằng nước đến vạch 1 000 ml và trộn đều. Trung hoà dung dịch axit boric bằng natri hydroxit 0,1 mol/l cho đến khi màu của dung dịch chuyển sang màu xanh.

CHÚ THÍCH Việc thêm 3 ml dung dịch NaOH 0,1 mol/l vào 1 l axit boric 1 % sẽ cho các điều chỉnh tốt hơn.

5.7 Dung dịch chất chỉ thị

5.7.1 Dung dịch chất chỉ thị được sử dụng trong chuẩn độ điểm pH kết thúc

Hoà tan 0,1 g đỏ metyl trong etanol 95 % (thể tích). Pha loãng đến 50 ml bằng etanol. Hoà tan 0,5 g xanh bromocresol trong một lượng nhỏ etanol 95 % (thể tích). Pha loãng đến 250 ml bằng etanol.

Trộn một phần dung dịch đỏ metyl với năm phần dung dịch xanh bromocresol hoặc gộp và trộn tất cả các phần của cả hai dung dịch.

5.7.2 Dung dịch chất chỉ thị được sử dụng trong dung dịch axit boric (5.6.2) khi chuẩn độ điểm kết thúc bằng so màu

a) Hoà tan 0,1 g xanh bromocresol trong 100 ml etanol 95 % (thể tích).

b) Hoà tan 0,1 g đỏ metyl trong 100 ml etanol 95 % (thể tích).

5.8 Dung dịch axit clohydric chuẩn, $c(\text{HCl}) = (0,1 \pm 0,0005) \text{ mol/l}$

Nếu chuẩn độ thủ công (9.2.3) thì nên sử dụng dung dịch axit clohydric thể tích chuẩn pha loãng hơn, $c(\text{HCl}) = (0,05 \pm 0,0005) \text{ mol/l}$.

TCVN 8099-3 : 2009

5.9 Amoni sulfat, $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, tối thiểu 99,9 % (khối lượng) theo chất khô

Ngay trước khi sử dụng, sấy khô amoni sulfat ở $102 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ không ít hơn 2 h. Để nguội trong tủ hút ẩm cho đến nhiệt độ phòng.

5.10 Tryptophan ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$) hoặc lysin hydro clorua ($\text{C}_6\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2$), tối thiểu 99 % (khối lượng)

Không sấy khô thuốc thử này trong tủ sấy trước khi sử dụng.

5.11 Sacaroza, có chứa hàm lượng nitơ không quá 0,002 % (khối lượng).

Không sấy khô sacaroza trong tủ sấy trước khi sử dụng.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

6.1 Nồi cách thủy, có thể duy trì ở $38 \text{ }^\circ\text{C}$ đến $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

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

6.3 Thiết bị phân huỷ kín, buồng hợp kim nhôm hoặc loại tương đương, có gắn bộ phận điều chỉnh nhiệt độ và dụng cụ để đo nhiệt độ của buồng kín.

6.4 Ống phân huỷ, dung tích 250 ml, thích hợp cho việc sử dụng-trong thiết bị phân huỷ (6.3).

6.5 Ống thoát khí, thích hợp để sử dụng với các ống phân huỷ (6.4)

6.6 Tháp rửa khí ly tâm hoặc bơm lọc hoặc máy hút, được chế tạo bằng vật liệu bền với axit, để sử dụng với đường ống cung cấp nước.

6.7 Pipet tự động (bộ phân phối), dung tích 5 ml và 10 ml.

6.8 Ống đong chia độ, dung tích 50 ml.

6.9 Thiết bị chưng cất, có thể chưng cất hơi nước, thủ công hoặc bán tự động, phù hợp với các ống phân huỷ (6.4) và các bình nón (6.10).

6.10 Bình nón, dung tích 250 ml.

6.11 Buret, dung tích 25 ml, được chia vạch ít nhất là 0,01 ml, phù hợp với yêu cầu loại A của TCVN 7149-1 (ISO 385-1).

Cách khác, có thể sử dụng buret tự động nếu đáp ứng được các yêu cầu.

6.12 Bộ chuẩn độ tự động, có gắn máy đo pH

Máy đo pH cần được hiệu chuẩn chính xác trong dải pH từ 4 đến 7 theo các qui trình hiệu chuẩn pH của phòng thử nghiệm thông thường.

7 Lấy mẫu

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

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

8 Chuẩn bị mẫu thử

Làm ấm mẫu thử trên nồi cách thủy (6.1) ở nhiệt độ từ 38. °C đến 40 °C. Làm nguội mẫu đến nhiệt độ phòng trong khi trộn nhẹ nhàng mẫu thử ngay trước khi cân phần mẫu thử (xem 9.1).

9 Cách tiến hành

9.1 Phần mẫu thử và xử lý sơ bộ

CHÚ THÍCH 1 Thông thường các mẫu thử được phân tích theo mẻ theo qui trình qui định.

Cho một lượng cần thiết viên xúc tác Kjeldahl (5.1), chứa khoảng 7 g kali sulfat vào một ống phân hủy sạch và khô (6.4). Cân khoảng 2 g mẫu thử đã chuẩn bị (Điều 8), chính xác đến 0,1 g cho vào ống phân hủy.

CHÚ THÍCH 2 Trong Phụ lục B có đưa ra cỡ mẫu đối với các sản phẩm khác của sữa khi áp dụng phương pháp này.

Dùng pipet tự động (6.7) bổ sung cẩn thận 10 ml axit sulfuric (5.2), tiếp theo cho thêm ba hoặc bốn giọt chất chống tạo bọt (5.4). Xoay nhẹ bình để trộn lượng chứa bên trong. Để yên ống có chứa dung dịch này 5 min. Cẩn thận dùng pipet tự động (6.7) bổ sung tiếp 5 ml dung dịch hydro peroxit (5.3) bằng cách cho chảy theo thành trong của ống. Xoay nhẹ ống để trộn lượng chứa bên trong. Để yên 10 min.

9.2 Tiến hành xác định

9.2.1 Phân hủy

Chuyển ống phân hủy cùng với lượng chứa bên trong ống (9.1) sang thiết bị phân hủy kín (6.3), để ở nhiệt độ qui định của nhà sản xuất thiết bị. Đặt ngay ống thoát khí (6.5), ống này được nối với tháp rửa khí ly tâm của dụng cụ tương tự (6.6) trên đỉnh ống phân hủy.

Phân hủy phần mẫu thử trong khoảng thời gian qui định của nhà sản xuất thiết bị. Chú ý không để dịch phân hủy tạo bọt dâng đến cổ của bình phân hủy. Quá trình phân hủy thường kết thúc trong khoảng từ

TCVN 8099-3 : 2009

40 min đến 60 min khi dung dịch còn lại đã trong. Phân hủy tiếp phần mẫu thử trong 15 min để dịch phân hủy trở nên trong hoàn toàn.

Lấy ống phân hủy cùng với tháp rửa khi ra khỏi buồng phân hủy kín và để nguội ít nhất 15 min. Khi các ống này đã nguội, tháo tháp rửa khi ra và cẩn thận thêm 50 ml nước vào mỗi ống.

CHÚ THÍCH Trong các hệ thống tự động, việc bổ sung nước trong thiết bị chưng cất cũng được thực hiện tự động.

9.2.2 Chưng cất

Chuyển ống phân hủy (9.2.1) sang thiết bị chưng cất (6.9).

Khi thiết bị chưng cất thực hiện tự động bao gồm cả chuẩn độ hàm lượng amoni của dịch cất, thì thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị chưng cất. Khi chuẩn độ amoni trong dịch cất được thực hiện bằng thủ công thì áp dụng qui trình được đề cập dưới đây:

Đặt bình nón (6.10) có chứa 50 ml dung dịch axit boric cũng với dung dịch chất chỉ thị (5.6.1) dưới đầu ra của bộ ngưng sao cho ống phân phối nằm ngập trong dung dịch axit boric. Chính thiết bị chưng cất để phân phối được 40 ml dung dịch natri hydroxit (5.5).

Cho vận hành thiết bị chưng cất theo chỉ dẫn của nhà sản xuất để chưng cất amoni đã giải phóng bằng cách bổ sung dung dịch natri hydroxit. Thu dịch cất trong dung dịch axit boric dư.

CHÚ THÍCH Trong thiết bị chưng cất bán tự động, việc bổ sung natri hydroxit dư và chưng cất hơi nước được thực hiện tự động.

9.2.3 Chuẩn độ

Dùng buret (6.11) chuẩn độ lượng chứa trong bình nón (9.2.2) bằng axit clohydric (5.7). Điểm kết thúc đạt được khi dung dịch có vết màu hồng. Đọc buret chính xác đến 0,05 ml. Khi sử dụng máy khuấy từ nên được rọi sáng có thể giúp cho việc nhìn thấy điểm kết thúc.

Cách khác, chuẩn độ lượng chứa trong bình nón (9.2.2) bằng axit clohydric chuẩn (5.8) sử dụng máy chuẩn độ tự động đã hiệu chuẩn đúng có gắn máy đo pH (6.12). Điểm pH kết thúc của chuẩn độ đạt được là 4,6 là điểm uốn nhất trong đường chuẩn độ (điểm uốn). Đọc trên máy chuẩn độ tự động lượng chất chuẩn độ đã sử dụng. Điểm kết thúc có thể phát hiện được bằng que thử màu hoặc giấy so màu.

CHÚ THÍCH Vết hồng đầu tiên quan sát được giữa pH 4,3 và 4,6 đối với hệ thống chất chỉ thị và dung dịch axit boric 4 % qui định trong phương pháp này. Thực tế, tốc độ thay đổi pH phụ thuộc vào HCl 0,1 mol/l đã thêm vào là rất nhanh trong dải pH này. Trong hệ thống này thì khoảng 0,05 ml dung dịch HCl 0,1 mol/l sẽ thay đổi 0,3 đơn vị pH trong dải pH từ 4,3 đến 4,6.

9.3 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng theo qui trình trong 9.1 đến 9.2.3 bằng cách lấy 2 ml nước và khoảng 0,20 g sacaroza (5.11) thay cho phần mẫu thử. Ghi lại các giá trị của phép thử trắng, nếu các kết quả của phép thử trắng có khác nhau thì phải tìm ra nguyên nhân.

Khuyến cáo bổ sung thêm ba hoặc bốn giọt chất chống tạo bọt (5.4) vào mẫu trắng đã phân hủy trước khi chưng cất, để giảm sự tạo bọt.

Lượng chất chuẩn độ được sử dụng trong phép thử trắng phải luôn luôn lớn hơn 0. Các giá trị mẫu trắng trong cùng một phòng thử nghiệm phải ổn định. Các phép thử trắng thực hiện trong cùng một phòng thử nghiệm luôn phải ổn định. Nếu mẫu trắng đã có màu hồng trước khi bắt đầu chuẩn độ thì đã có sai sót. Thông thường trong những trường hợp đó thì các bình nón đã không sạch hoặc nước từ không khí ẩm có thể ngưng tụ trên mặt ngoài của dụng cụ ngưng đã chảy vào bình ngưng gây nhiễm bẩn. Các giá trị mẫu trắng điển hình bằng hoặc thấp hơn 0,15 ml.

CHÚ THÍCH Mục đích của việc sử dụng sacaroza trong phép thử trắng hoặc chuẩn thu hồi là để đóng vai trò của chất hữu cơ để tiêu thụ một lượng axit sulfuric trong quá trình phân hủy là tương đương với phần mẫu thử.

Mẫu trắng đối với các mẫu không phải là sữa cần chứa một lượng sacaroza mà sẽ tiêu tốn một lượng axit tương đương trong quá trình phân hủy theo mẫu trung bình.

9.4 Các phép thử về độ thu hồi

9.4.1 Độ đúng của qui trình cần được kiểm tra thường xuyên bằng các phép thử về độ thu hồi sau đây, tiến hành theo 9.1 đến 9.2.3.

9.4.2 Kiểm tra hiệu quả của qui trình phân hủy bằng cách sử dụng 0,06 g lysin hydro clorua hoặc 0,08 g tryptophan (5.10) cùng với 0,15 g sacaroza (5.11), mỗi thứ được cân chính xác đến 0,1 mg. Xác định hàm lượng nitơ theo qui trình mô tả trong 9.1 đến 9.2.3. Hàm lượng nitơ dự kiến là 15,33 % trong lysin và 13,72 % trong tryptophan, tính theo khối lượng.

CHÚ THÍCH Lượng sacaroza bổ sung là để xác định độ thu hồi nitơ khi có lượng trung bình axit dư có mặt tại giai đoạn cuối của phân hủy khi thử nghiệm mẫu sữa. Đối với các mẫu không phải là sữa, xem Phụ lục A của TCVN 8099-1 : 2009 (ISO 8968-1 : 2001).

Độ thu hồi nitơ từ lysin hydro clorua hoặc tryptophan phải từ 98 % đến 100,0 %.

9.4.3 Chuẩn bị dung dịch amoni sulfat (5.9) với nồng độ chính xác 0,05 mol/l. Dùng pipet lấy một lượng 10,0 ml dung dịch amoni sulfat cho vào ống phân hủy. Thêm 50 ml nước. Xác định hàm lượng nitơ của dung dịch theo qui trình trong 9.2.2 đến 9.2.3.

Cách khác, cân trực tiếp 0,06 g amoni sulfat (5.9) cho vào bình phân hủy. Hàm lượng nitơ dự kiến trong amoni sulfat là 21,09 % (khối lượng).

Độ thu hồi nitơ từ amoni sulfat phải từ 99,0 % đến 100,0 %.

9.4.4 Các kết quả của phép thử độ thu hồi (9.4.2 và 9.4.3) thấp hơn 98,0 % (trong 9.4.2) hoặc 99,0 % (trong 9.4.3) hoặc cao hơn 100,0 %, cho thấy có sai sót trong qui trình và/hoặc nồng độ của dung dịch axit clohydric (5.8) không đúng.

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Tính hàm lượng nitơ

10.1.1 Tính hàm lượng nitơ trong mẫu thử, w_N , sử dụng công thức sau đây:

$$w_N = \frac{1,4007(V_s - V_b) \times M_r}{m}$$

trong đó

V_s là thể tích của dung dịch axit clohydric chuẩn (5.8) đã dùng trong phép xác định (9.2.3), chính xác đến 0,05 ml, tính bằng mililit (ml);

V_b là thể tích của dung dịch axit clohydric chuẩn (5.8) đã dùng trong phép thử trắng (9.3), chính xác đến 0,05 ml, tính bằng mililit (ml);

M_r là nồng độ mol/l của axit clohydric chuẩn (5.8), lấy chính xác đến bốn chữ số thập phân;

m là khối lượng phần mẫu thử (9.1), cân chính xác đến 0,1 mg, tính bằng gam (g).

10.1.2 Biểu thị kết quả chính xác đến bốn chữ số thập phân, nếu cần để tính toán tiếp theo. Đối với kết quả cuối cùng, biểu thị hàm lượng nitơ đến ba chữ số thập phân và hàm lượng protein đến hai chữ số thập phân.

Các kết quả thu được không được làm tròn cho đến khi tính giá trị cuối cùng của phép thử. Điều này đặc biệt đúng khi các giá trị được sử dụng để tính toán tiếp. Một ví dụ là khi các giá trị thử nghiệm riêng lẻ thu được từ phép phân tích nhiều mẫu được dùng để tính toán thống kê về thực hiện của phương pháp về độ lệch trong một phòng hoặc giữa các phòng thử nghiệm. Một ví dụ khác là khi các giá trị được sử dụng làm chuẩn để hiệu chuẩn thiết bị (ví dụ: máy phân tích sữa dùng tia hồng ngoại) có các giá trị từ nhiều mẫu được sử dụng trong tính toán đơn giản hoặc hồi qui bội số. Khi đó các giá trị thu được không được làm tròn trước khi dùng để tính toán tiếp theo.

10.2 Tính hàm lượng protein thô

10.2.1 Tính hàm lượng protein thô của mẫu thử, w_p , sử dụng công thức sau đây:

$$w_p = w_N \times 6,38$$

trong đó

w_p là hàm lượng protein thô tính bằng phần trăm khối lượng (%);

w_N là hàm lượng nitơ của mẫu thử, tính bằng phần trăm khối lượng được lấy đến bốn chữ số thập phân (10.1) (%).

6,38 là hệ số để chuyển đổi nitơ thành protein thô.

10.2.2 Báo cáo kết quả thu được đối với protein thô đến ba chữ số thập phân, nếu cần để tính toán tiếp. Đối với kết quả cuối cùng (xem 10.1.2) thì biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A.

Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng cho các dải nồng độ và các chất nền khác với các giá trị đã nêu.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử độc lập, đơn lẻ thu được khi sử dụng cùng 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 0,0055 % đối với hàm lượng nitơ (0,035 % đối với hàm lượng protein thô).

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp 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 quá 5 % các trường hợp vượt quá 0,0071 % đối với hàm lượng nitơ (0,045 % đối với hàm lượng protein thô).

12 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 tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có thể ảnh hưởng đến kết quả thử;
- e) kết quả thử nghiệm thu được; nếu thỏa mãn yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được; nếu thỏa mãn yêu cầu về độ thu hồi thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Các kết quả thu được đã được phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) để cho số liệu về độ chụm trong Bảng A.1. Một nghiên cứu cộng tác quốc tế do Cecalait Laboratory (Poligny, Pháp), gồm 14 phòng thử nghiệm từ nước: Israel, Tây Ban Nha, Thụy Sĩ, Italia, Thụy Điển và Pháp tham gia thực hiện.

Các kết quả của một phòng thử nghiệm không được xem xét do độ thu hồi thấp của một trong các chất chuẩn (tryptophan). Phép thử gồm 6 mẫu sữa trong đó ở mỗi mức nitơ chưa biết có 2 mẫu: thấp, trung bình và cao.

Bảng 1 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

	Mẫu					
	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ ^a	13	13	13	13	13	13
Giá trị trung bình (g N/100 g sữa)	0,5995	0,5712	0,5414	0,4814	0,4219	0,3922
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,0028	0,0008	0,0015	0,0020	0,0021	0,0021
Hệ số biến thiên lặp lại (%)	0,461	0,133	0,270	0,424	0,505	0,529
Giới hạn lặp lại, $r (= 2,8 s_r)$, (g N/100 g sữa)	0,078	0,0022	0,0041	0,0058	0,0060	0,0059
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R (g N/100 g sữa)	0,0032	0,0018	0,0018	0,0045	0,0032	0,0023
Hệ số biến thiên tái lập (%)	0,526	0,312	0,334	0,939	0,762	0,581
Giới hạn tái lập, $R (= 2,8 s_R)$, (g N/100 g sữa)	0,0089	0,0050	0,0051	0,0128	0,0091	0,0064

^a Sau khi trừ ngoại lệ 1 % Cochran và Grubbs.

Các số liệu sau đây (tất cả biểu thị theo g N/100 g sữa) đã thu được

Đối với 6 mẫu trong phép thử: $s_r = 0,0020$ và $r = 0,0055$

$s_R = 0,0030$ và $R = 0,0082$

Tuy nhiên, theo phép thử Cochran thì biến động của mẫu S4 theo thống kê khác với các kết quả của các mẫu khác. Điều này được tính trong việc loại trừ các kết quả của mẫu này thì số liệu về độ chụm (tất cả biểu thị theo g N/100 g sữa) sẽ là:

Đối với 5 mẫu trong phép thử: $s_r = 0,0020$ và $r = 0,0055$

$s_R = 0,0025$ và $R = 0,0071$

Phụ lục B
(Tham khảo)

Quy trình có sửa đổi để phân tích các sản phẩm sữa khác

B.1 Yêu cầu chung

Quy trình mô tả trong tiêu chuẩn này đã được tối ưu hoá và hiệu quả thực hiện của phương pháp này đã được đánh giá cho việc phân tích sữa. Có thể sử dụng cùng quy trình với sự sửa đổi nhỏ để xác định hàm lượng nitơ trong sản phẩm sữa. Tuy nhiên, cần lưu ý rằng quy trình và tính năng thực hiện đối với việc sử dụng như thế chưa được đánh giá hiệu lực.

B.2 Cách tiến hành

Theo 9.1 đến 9.4 nhưng điều chỉnh lượng mẫu thử được lấy từ mẫu thử đã chuẩn bị, sao cho phần này chứa khoảng 0,01 g nitơ hoặc 0,06 g protein (xem bảng B.1).

CHÚ THÍCH Các thông tin bổ sung liên quan đến quy trình sửa đổi cho các sản phẩm sữa được nêu trong Phụ lục A của TCVN 8099-1 (ISO 8968-1).

Bảng B.1 – Tính khối lượng phần mẫu thử cần lấy để đảm bảo rằng 0,01 g nitơ đã được phân huỷ

Sản phẩm	Hàm lượng protein gần đúng % (khối lượng)	Hàm lượng nitơ gần đúng % (khối lượng)	Khối lượng phần mẫu thử gần đúng % (khối lượng)
Sữa bột (nguyên chất, sữa gầy hoặc chất béo)	32,0	5,0	0,2
Bột whey	12,5	2,0	0,5
Whey	0,8	0,13	8,0
Phomat	26,0	4,0	0,25
Cream	1,3 đến 2,6	0,2 đến 0,4	2,5 đến 5,0

Đối với các mẫu như cream, thì có thể cần sử dụng 20 ml axit sulfuric để phân huỷ hoàn toàn mẫu. Thể tích dung dịch natri hydroxit cần bổ sung trước khi chưng cất phải được tăng tương ứng.

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: Các định nghĩa và nguyên tắc 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 để xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.
 - [4] TCVN 8099-1(ISO 8968-1/IDF 20-1), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ - Phần 1: Phương pháp Kjeldahl.
 - [5] TCVN 8099-2 (ISO 8968-2/IDF 20-2), Sữa – Xác định hàm lượng nitơ - Phần 2: Phương pháp phân huỷ kín (Phương pháp Macro).
-