

TCVN

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

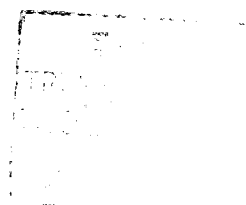
TCVN 6427-2 : 1998

ISO 6557/2 : 1984

RAU, QUẢ VÀ CÁC SẢN PHẨM RAU QUẢ -
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AXIT ASCORBIC -
PHẦN 2 : PHƯƠNG PHÁP THÔNG DỤNG

*Fruits, vegetables and derived products -
Determination of ascorbic acid content -
Part 2 : Routine method*

HÀ NỘI - 1998



Lời nói đầu

TCVN 6427-2 : 1998 hoàn toàn tương đương với ISO 6557/2 : 1984

TCVN 6427-2 : 1998 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 và được Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.

Rau quả và các sản phẩm rau quả - xác định hàm lượng axit ascorbic

Phần 2 : Phương pháp thông thường

*Fruits, vegetables and derived products - determination of ascorbic acid content
Part 2 : Routine methods*

1 Phạm vi và lĩnh vực áp dụng

Phần này của tiêu chuẩn quy định hai phương pháp thông thường để xác định hàm lượng axit ascorbic¹⁾ trong rau quả và các sản phẩm từ rau quả.

Phương pháp A : phương pháp chuẩn độ bằng 2,6 diclorophenolindophenol.

Phương pháp B : phương pháp đo quang phổ với 2,6 diclorophenolindophenol sau khi chiết bằng xylen.

Phương pháp A chỉ áp dụng khi không có một số chất gây nhiễu (xem 2.6).

Phương pháp B có thể áp dụng cho các sản phẩm từ rau quả trong những dung dịch có màu mạnh.

2 Phương pháp A

Phương pháp chuẩn độ bằng 2,6 diclorophenolindophenol.

2.1 Nguyên tắc

Chiết axit ascorbic của phân mẫu thử bằng dung dịch axit oxalic, hoặc bằng dung dịch axit metaphosphoric - axit axetic. Chuẩn độ bằng 2,6 diclorophenolindophenol cho đến khi xuất hiện màu hồng nhạt.

¹⁾ axit ascorbic được xác định theo axit dehydroascorbic

TCVN 6427-2 : 1998

2.2 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử phải là loại phân tích. Nước sử dụng phải là nước cất hoặc có độ tinh khiết tương đương.

2.2.1 Dung dịch chiết

Dùng dung dịch axit oxalic 2% (m/m), hoặc dung dịch axit metaphosphoric/axit axetic được chuẩn bị như sau :

Hoà tan 15g axit metaphosphoric trong 40ml axit axetic băng và 200ml nước trong một bình định mức dung tích 500ml thêm nước cho tới vạch và lọc ngay qua giấy lọc cho vào một chai thủy tinh.

Dung dịch này có thể bảo quản được trong tủ lạnh từ 7 đến 10 ngày.

2.2.2 2,6 diclorophenolindophenol, dung dịch thuốc nhuộm mẫu

Hoà tan 50mg muối natri của 2,6 diclorophenolindophenol trong 150ml nước nóng (50-60 °C) chứa 42mg natri hydro cacbonat trong bình định mức dung tích 200ml thêm nước đến vạch và lọc. Bảo quản dung dịch này trong chai màu nâu sẫm và để trong tủ lạnh. Vì dung dịch này bị phân hủy theo thời gian nên phải pha dung dịch mới theo định kỳ.

2.2.3 Axit ascorbic, dung dịch chuẩn 1g/l

Cân 50mg axit ascorbic, cân chính xác đến 0,01mg được bảo quản trong bình hút ẩm, cho vào bình định mức dung tích 50ml và thêm dung dịch chiết cho tới vạch (2.2.1).

2.3 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng thiết bị, dụng cụ thí nghiệm thông thường, và

2.3.1 Cân phân tích.

2.3.2 Máy trộn.

2.3.3 Buret có dung tích từ 10ml đến 50ml.

2.4 Cách tiến hành

2.4.1 Chuẩn bị mẫu thử

Nếu cần, loại bỏ hạt và những vách cứng của khoang chứa hạt rồi trộn kỹ mẫu. Lọc và tiến hành xác định đối với dịch lọc.

Để sản phẩm đông lạnh tan giá trong một bình kín và cho dịch tan chảy này vào sản phẩm trước khi nghiền trộn mẫu.

2.4.2 Phần mẫu thử

Cân từ 10g đến 100g mẫu chính xác đến 0,1mg.

2.4.3 Xác định

2.4.3.1 Chiết

Trộn phần mẫu thử với dung dịch chiết (2.2.1) sao cho thể tích dịch chiết, tính bằng mililit, gấp từ 1 đến 5 lần khối lượng phần mẫu thử tính bằng gam.

Lọc dung dịch, loại bỏ một vài mililit dịch lọc ban đầu.

Nồng độ axit ascorbic trong dung dịch thử này phải trong khoảng từ 0,1mg/l đến 1mg/ml.

2.4.3.2 Chuẩn hóa dung dịch thuốc nhuộm mẫu

Pha loãng 5ml dung dịch axit ascorbic chuẩn (2.2.3) với 5ml dung dịch chiết (2.2.1) và chuẩn độ nhanh bằng dung dịch thuốc nhuộm mẫu (2.2.2) cho đến khi có màu hồng bền ít nhất trong 5 giây. Lặp lại quá trình này thêm hai lần, và ghi lại thể tích dung dịch thuốc nhuộm mẫu đã sử dụng cho mỗi lần, chính xác đến 0,1ml.

Tiến hành như vậy đối với mẫu trắng, thay 5ml dung dịch axit ascorbic chuẩn bằng 5ml dung dịch chiết.

Lấy thể tích dung dịch thuốc nhuộm sử dụng cho ba lần chuẩn độ trừ đi kết quả của mẫu trắng và biểu thị nồng độ của dung dịch thuốc nhuộm mẫu theo khối lượng, tính bằng miligam của axit ascorbic tương đương với 1,0ml dung dịch.

2.4.3.3 Chuẩn độ

Lấy ba phần dịch lọc thu được trong 2.4.3.1 sao cho mỗi phần chứa khoảng 2mg axit ascorbic và chuẩn độ nhanh với dung dịch thuốc thử cho đến khi có màu hồng nhạt bền ít nhất trong 5 giây. Lấy thể tích trung bình cộng của dung dịch thuốc nhuộm mẫu đã sử dụng để tính toán (xem 2.5).

2.4.4 Thử mẫu trắng

TCVN 6427-2 : 1998

Tiến hành thử mẫu trắng như quy định trong 2.4.3, sử dụng cùng một thể tích dịch chiết như trong 2.4.3.1 nhưng bỏ qua phần mẫu thử.

2.4.5 Số lần xác định

Thực hiện ba lần xác định trên các phần mẫu thử của cùng một mẫu.

2.5 Biểu thị kết quả

Hàm lượng axit ascorbic, biểu thị bằng miligam trên 100g sản phẩm theo công thức sau :

$$\frac{(V_0 - V_1) \times m_1}{m_0} \times 100$$

trong đó :

m_0 là khối lượng của phần mẫu thử trong phân dịch lấy để chuẩn độ, tính bằng gam ;

m_1 là khối lượng của axit ascorbic tương đương với 1,0ml dung dịch thuốc nhuộm xem (2.4.3.2), tính bằng miligam ;

V_0 là thể tích của dung dịch thuốc nhuộm dùng chuẩn độ, tính bằng mililit ;

V_1 là thể tích của dung dịch thuốc nhuộm dùng trong mẫu trắng tính bằng mililit.

Lấy kết quả trung bình cộng các giá trị thu được của ba lần xác định.

2.6 Những lưu ý trong trình tự thử

Một số chất ảnh hưởng đến quá trình phân tích đặc biệt là sắt, đồng, thiếc, những chất khử, hydrosulfit, sulfit và sunfua dioxit. Đặc biệt, những chất khử có mặt trong sản phẩm bị sử lý quá nhiệt hoặc đã bảo quản quá lâu.

Nếu nghi ngờ có những chất kể trên cần tiến hành như sau :

Thêm hai giọt dung dịch xanh metylen 0,05% vào 10ml dung dịch chứa lượng dung dịch thử và dịch chiết bằng nhau. Lắc trộn. Nếu mất màu trong khoảng 5 - 10 giây chứng tỏ có mặt những chất gây nhiễu.

Chú thích : riêng thiếc không thể phát hiện được theo cách này mà phải tiến hành như sau :

Thêm 5 giọt indigo carmin 0,05% vào 10ml dung dịch thử đã chứa 10ml axit HCl nồng độ (1 + 3). Lắc trộn. Nếu mất màu trong 5 - 10 giây chứng tỏ sự có mặt của thiếc hoặc các chất gây nhiễu khác.

3 Phương pháp B : Phương pháp đo phổ 2,6 diclophenolindophenol sau khi chiết với xylen.

3.1 Nguyên tắc

Chiết axit ascorbic từ phần mẫu thử bằng dung dịch axit oxalic hoặc dung dịch axit metaphosphoric/ axit axetic. Khử từ thuốc nhuộm mẫu 2,6 diclorophenolindophenol bằng axit ascorbic, chiết lượng thuốc nhuộm mẫu dư bằng xylen và xác định lượng dư này bằng phương pháp đo phổ ở bước sóng 500nm.

3.2 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử phải là loại phân tích. Sử dụng nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

3.2.1 Dung dịch chiết

Xem 2.2.1.

3.2.2 Natri axetat/axit axetic, dung dịch đệm, pH 4,0.

Cho 300g natri axetat khan vào 700ml nước và 1000ml axit axetic băng.

3.2.3 2,6 diclorophenolindophenol, dung dịch thuốc nhuộm.

Xem 2.2.2.

3.2.4 Axit ascorbic, dung dịch chuẩn 1g/l.

Xem 2.2.3.

3.2.5 Xylen

Cảnh báo : xylen có tác dụng gây mê ở nồng độ cao cho nên tất cả các thao tác liên quan đến việc sử dụng xylen phải tiến hành trong tủ hút.

Kiểm tra độ tinh khiết của xylen như sau :

Cho axit ascorbic vào một lượng nhỏ thuốc nhuộm (3.2.3) cho đến khi dung dịch bị phai màu, lắc với 10ml xylen. Để trong 10 phút. Nếu có bất kỳ vết màu nào trong lớp xylen thì xylen đó phải được chưng cất.

Xylen sử dụng trong việc xác định này có thể được thu hồi bằng cách lắc với dung dịch natri hydroxit 20% (m/m) để trung hòa axit axetic, sau đó chưng cất lại.

TCVN 6427-2 : 1998

3.3 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng thiết bị dụng cụ thí nghiệm thông thường, và

3.3.1 Cân phân tích.

3.3.2 Máy trộn.

3.3.3 Microburet có dung tích 2ml, 5ml và 10ml.

3.3.4 Ống li tâm dung tích 25ml có nút thủy tinh.

3.3.5 Máy li tâm.

3.3.6 Máy đo phổ, thích hợp để đo ở bước sóng 500nm.

3.4 Cách tiến hành.

3.4.1 Chuẩn bị mẫu thử

Tiến hành như trong 2.4.1.

3.4.2 Phần mẫu thử

Tiến hành như trong 2.4.2.

3.4.3 Xác định

3.4.3.1 Chiết

Tiến hành như quy định trong 2.4.3.1 để thu được dung dịch thử chứa từ 0,05mg đến 0,5mg axit ascorbic trong mililit.

3.4.3.2 Chuẩn hóa dung dịch thuốc nhuộm mẫu

Tiến hành như trong 2.4.3.2

3.4.3.3 Khử

Dùng pipet lấy từ 1ml đến 5ml dung dịch thử cho vào một ống li tâm (3.3.4) và cho thêm một lượng tương đương dịch đệm (3.2.2). Thêm ngay một lượng dư thuốc nhuộm (3.2.3), lắc và thêm 10ml xylene (3.2.5). Đậy nút và lắc mạnh trong 6 - 10 giây. Ly tâm để tách riêng lớp xylene ở trên. Lấy ra cẩn thận lớp xylene ở trên và đổ đầy vào cuvet đo phổ.

3.4.3.4 Đo phổ

Đo độ hấp thụ của lớp xylen ở bước sóng 500nm.

3.4.4 Thử mẫu trắng.

Đo độ hấp thụ của xylen (3.2.5) ở bước sóng 500nm

3.4.5 Chuẩn bị đồ thị chuẩn

Chuyển vào bốn ống li tâm (3.3.4) mỗi ống cùng một lượng dung dịch chiết như dùng để xác định (3.4.3.3). Cho vào mỗi ống li tâm một lượng dung dịch đệm (3.2.2) và thêm vào từng ống lần lượt 0,2ml, 0,4ml, 0,6ml và 0,8ml dung dịch thuốc nhuộm màu (3.2.3).

Tiến hành như trong 3.4.3.3.

Dựng đồ thị của độ hấp thụ tương ứng với thể tích dung dịch thuốc nhuộm đã cho vào.

3.4.6 Số lần xác định

Thực hiện hai lần xác định trên cùng mẫu thử.

3.5 Biểu thị kết quả

Hàm lượng axit ascorbic, tính bằng miligam trong 100g sản phẩm theo công thức :

$$\frac{(V_0 - V_1) \times m_1}{m_0} \times 100$$

trong đó :

m_0 là khối lượng của phần mẫu thử lấy để xác định, tính bằng gam ;

m_1 là khối lượng axit ascorbic tương đương với 1,0ml dung dịch thuốc thử, tính bằng miligam ;

V_0 là thể tích dung dịch thuốc nhuộm cho vào(3.4.3.3), tính bằng mililit ;

V_1 là thể tích thuốc nhuộm dư tương ứng với độ hấp thụ đo được trong 3.4.3.4, đọc từ đồ thị chuẩn, tính bằng mililit.

3.6 Độ lặp lại

Chênh lệch giữa các kết quả của hai lần xác định (3.4.6), được thực hiện đồng thời hoặc liên tiếp nhanh bởi cùng một người phân tích trên cùng một mẫu thử, phải không vượt quá 3% giá trị trung bình.

3.7 Những lưu ý trong trình tự thử

TCVN 6427-2 : 1998

3.7.1 Nếu sản phẩm chứa những sắc tố có thể chiết bằng xylen, hiệu chỉnh mẫu trắng hydroquynon như sau :

Sau khi đo độ hấp thụ của lớp xylen (xem 3.4.3.4), thêm 2 giọt dung dịch hydroquynon nửa bão hòa (được pha chế bằng cách thêm hai lần thể tích axeton cần thiết để đạt được một dung dịch hydroquynon bão hòa), lắc trộn, để trong 30 giây và đo lại độ hấp thụ lần nữa. Lấy độ hấp thụ ban đầu của lớp xylen trừ đi độ hấp thụ lần sau.

3.7.2 Nếu sản phẩm đã bị quá nhiệt hoặc được bảo quản quá lâu, hoặc, trong trường hợp, những sản phẩm tự nhiên (ví dụ : nước nho tím đen), có thể xử lý bằng formaldehyt để kiểm tra sự có mặt của những chất khử không liên quan đến axit ascorbic. Để thực hiện mục đích này, tiến hành mẫu đối chứng song song với mẫu xác định, tiến hành như trong 3.4 đến khi thêm dung dịch thuốc nhuộm. Trước khi thêm thuốc nhuộm mẫu, cho vào dung dịch thử 1ml nước và cho vào dung dịch kiểm tra 1ml dung dịch formadehyt 40%. Để trong 10 phút rồi tiến hành xác định.

Từ đồ thị chuẩn xác định thể tích dung dịch thuốc nhuộm bị mất màu bởi những chất gây nhiễu và hiệu chỉnh kết quả sao cho phù hợp.

4 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải nêu phương pháp đã sử dụng và kết quả thu được. Cũng phải kể đến bất kỳ chi tiết nào không nêu trong tiêu chuẩn này, hoặc được coi như tùy ý lựa chọn, cùng với những chi tiết bất thường nào ảnh hưởng đến kết quả.

Báo cáo kết quả phải bao gồm tất cả những thông tin cần thiết cho việc nhận biết hoàn toàn mẫu thử.
