

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 9967 : 2013

ISO 3976:2006

Xuất bản lần 1

**CHẤT BÉO SỮA –
XÁC ĐỊNH TRỊ SỐ PEROXIT**

Milk fat – Determination of peroxide value

HÀ NỘI - 2013

Lời nói đầu

TCVN 9967:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 3976:2006;

TCVN 9967:2013 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.

Chất béo sữa - Xác định trị số peroxit

Milk fat - Determination of peroxide value

CẢNH BÁO – Khi 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 đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này cần 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 quy định phương pháp xác định trị số peroxit của chất béo sữa (milk fat) dạng khan.

Phương pháp này có thể áp dụng cho chất béo sữa dạng khan có trị số peroxit đến 1,3 mmol oxi trên kilogam.

CHÚ THÍCH: Đối với các mẫu chất béo sữa có các trị số peroxit từ 0,5 mmol đến 1,3 mmol oxi trên kilogam thì sử dụng quy trình mở rộng (xem Phụ lục A). Đối với các mẫu chất béo sữa có các trị số peroxit lớn hơn 1,3 mmol oxi trên kilogam thì có thể sử dụng phương pháp iod/thiosulfat (ví dụ: AOAC 920.160).

2 Thuật ngữ và định nghĩa

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

2.1

Trị số peroxit (peroxide value)

Lượng chất có trong mẫu thử xác định được bằng quy trình quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Trị số peroxit được biểu thị bằng milimol oxi trên kilogam.

3 Nguyên tắc

Hòa tan phần mẫu thử vào hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan, sau đó thêm sắt(II) clorua và amoni thiocyanat. Peroxit oxi hóa sắt(II) tạo thành phức chất sắt(III) màu đỏ với amoni thiocyanat. Sau thời gian phản ứng quy định, tính lượng chất tạo thành bằng phép đo quang phức chất sắt(III) màu đỏ.

4 Thuốc thử

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

4.1 Hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan, tỷ lệ 3:2:1 (phần thể tích).

Trộn hai phần thể tích 1-decanol với một phần thể tích *n*-hexan. Thêm ba phần thể tích metanol khan vào hỗn hợp này và trộn lại.

Hỗn hợp này dễ cháy và có mùi khó chịu. Do đó, nên làm việc trong tủ hút và mang găng tay.

Có thể sử dụng ete dầu mỏ có dải sôi từ 60 °C đến 80 °C để thay cho *n*-hexan.

4.2 Dung dịch sắt(II) clorua (FeCl₂), c(Fe²⁺) ~1 mg/ml.

Chuẩn bị dung dịch sắt(II) clorua trong điều kiện ánh sáng gián tiếp mờ.

Hòa tan khoảng 0,4 g bari clorua ngậm hai phân tử nước (BaCl₂·2H₂O) trong khoảng 50 ml nước. Sau đó hòa tan khoảng 0,5 g sắt(II) sulfat ngậm bảy phân tử nước (FeSO₄·7H₂O) trong khoảng 50 ml nước. Rót nhẹ nhàng dung dịch bari clorua vào dung dịch sắt(II) sulfat trong khi vẫn khuấy liên tục. Thêm khoảng 2 ml dung dịch axit clohydric I (4.5) và trộn lại.

Để cho bari sulfat kết tủa hoặc cho ly tâm hỗn hợp cho đến khi lớp chất lỏng phía trên trong suốt. Gạn lấy dung dịch trong suốt thu được vào chai thủy tinh màu nâu. Không bảo quản dung dịch này quá một tuần.

Cách khác, có thể chuẩn bị dung dịch sắt(II) clorua bằng cách hòa tan khoảng 0,35 g sắt(II) clorua ngậm bốn phân tử nước (FeCl₂·4H₂O) trong khoảng 100 ml nước. Thêm 2 ml dung dịch axit clohydric I (4.5) và trộn.

4.3 Dung dịch amoni thiocyanat

Hòa tan khoảng 30 g amoni thiocyanat (NH₄SCN) trong nước. Thêm nước đến 100 ml. Nếu dung dịch vẫn không mất màu thì rửa dung dịch vài lần bằng các lượng nhỏ (ví dụ: 5 ml) iso-amyl alcohol (3-metylbutan-1-ol).

4.4 Dung dịch chuẩn sắt(III) clorua (FeCl₃), c(Fe) = 10 µg/ml.

Hòa tan 0,500 g bột sắt trong khoảng 50 ml dung dịch axit clohydric I (4.5) trong bình định mức một vạch 500 ml. Thêm 1 ml đến 2 ml dung dịch hydro peroxit (4.7). Loại bỏ lượng hydro peroxit dư bằng cách đun sôi trong 5 min. Làm nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm nước đến vạch 500 ml và trộn.

Có thể chuẩn bị dung dịch sắt(III) clorua chứa 1 g/l sắt từ các chất chuẩn bán sẵn trên thị trường.

Dùng pipet lấy 1 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức một vạch 100 ml. Thêm hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (4.1) đến vạch 100 ml và trộn.

4.5 Dung dịch axit clohydric I, $c(\text{HCl}) \approx 10 \text{ mol/l}$.

4.6 Dung dịch axit clohydric II, $c(\text{HCl}) \approx 0,2 \text{ mol/l}$.

Pha loãng 2 ml dung dịch axit clohydric I (4.5) trong nước đến 100 ml.

4.7 Dung dịch hydro peroxit (H_2O_2), khoảng 30 % khối lượng.

4.8 Axit nitric (HNO_3) loãng, khoảng 10 % khối lượng.

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 Dụng cụ thủy tinh

Tất cả các dụng cụ thủy tinh được sử dụng phải được ngâm trong axit nitric loãng (4.8) trong 24 h. Tráng rửa dụng cụ thủy tinh bốn lần bằng nước vòi và bốn lần bằng nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương trước khi được sấy khô 1 h trong tủ sấy (5.10) ở nhiệt độ 100 °C.

Việc làm sạch các dụng cụ thủy tinh là rất quan trọng. Có thể sử dụng các quy trình làm sạch khác nếu cho kết quả tương tự.

5.2 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg, có thể đọc đến 0,1 mg.

5.3 Dụng cụ phân phối, có thể phân phối chính xác 9,9 ml, 9,6 ml, 9,4 ml, 8,9 ml, 8,4 ml và 7,9 ml hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (4.1).

5.4 Dụng cụ phân phối, có thể phân phối chính xác 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml và 2,0 ml dung dịch chuẩn sắt(III) clorua (4.4), tương ứng.

5.5 Micropipet, có thể phân phối chính xác 0,05 ml dung dịch amoni thiocyanat (4.3), dung dịch sắt(II) clorua (4.2) và dung dịch axit clohydric II (4.6), tương ứng.

5.6 Máy đo quang, có thể đo được ở bước sóng gần 500 nm.

5.7 Cuvet có nắp đậy, thích hợp với máy đo quang (5.6), bền với tất cả các loại thuốc thử được sử dụng trong qui trình.

5.8 Ống nghiệm thủy tinh, có nắp đậy bằng thủy tinh mài.

5.9 Tủ sấy điện, có thể duy trì được nhiệt độ từ 40 °C đến 45 °C.

TCVN 9967:2013

5.10 Tủ sấy điện, có thể duy trì được nhiệt độ ở $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

5.11 Máy ly tâm, có roto xoay, có thể tạo gia tốc hướng tâm ít nhất ở 350 g, (ví dụ: máy ly tâm Gerber).

5.12 Ống ly tâm, thích hợp để dùng với máy ly tâm (5.11).

5.13 Phễu thủy tinh, có giấy lọc gấp nếp (loại trung bình).

5.14 Chai, phù hợp để sử dụng thuốc thử.

6 Lấy mẫu

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

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

7 Chuẩn bị mẫu thử

7.1 Yêu cầu chung

Thực hiện các thao tác trong điều kiện ánh sáng gián tiếp mờ.

7.2 Chất béo sữa dạng khan, butteroil dạng khan, butteroil và bơ sữa trâu (ghee)

Nếu cần, hóa lỏng hoàn toàn mẫu thử (chi tiết xem IDF 68A) bằng cách làm ấm hộp đựng mẫu chưa mở ở nhiệt độ hóa lỏng thấp nhất. Trộn mẫu đã hóa lỏng, tránh để không khí lẫn vào mẫu thử.

Tiến hành ngay phép xác định khi mẫu thử đang ở trạng thái lỏng.

7.3 Bơ

Cho một lượng mẫu thử thích hợp vào ống ly tâm (5.12). Làm tan chảy mẫu thử trong tủ sấy (5.9) cài đặt ở nhiệt độ từ $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tách chất béo bằng ly tâm ở gia tốc hướng tâm nhỏ nhất là 350 g trong 5 min.

Lọc butterfat tách được còn ấm qua giấy lọc khô gấp nếp trên phễu thủy tinh (5.13) để trong tủ (5.9) ở nhiệt độ từ $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ đến $45\text{ }^{\circ}\text{C}$. Butterfat đã lọc phải trong, không có nước và các hợp chất không béo.

Tiến hành ngay phép xác định khi mẫu vẫn ở trạng thái lỏng.

8 Cách tiến hành (xem Phụ lục A)

8.1 Các phòng ngừa để tránh oxi hóa và tránh nhiễu phép đo độ tắt quang

8.1.1 Tránh để mẫu thử tiếp xúc với ánh sáng. Thực hiện phép thử trong điều kiện ánh sáng gián tiếp, càng mờ càng tốt.

8.1.2 Thực hiện tất cả các phép đo tắt quang ở bước sóng tắt cực đại của phức chất sắt(III) màu đỏ, nghĩa là gần với 500 nm.

8.1.3 Thực hiện tất cả các phép đo tắt quang trong các cuvet (5.7) đã đậy nắp ngay sau khi làm đầy. Trước khi lấy số đọc, để yên các cuvet đã đậy nắp 10 min để hỗn hợp cân bằng.

CHÚ THÍCH: Việc bay hơi dung môi có thể làm ngưng tụ lên thành phía trên của cuvet. Khi tái hợp với khối chất lỏng, sự ngưng tụ này tạo ra sự nhiễu xạ chùm ánh sáng bởi các vết dung môi khác nhau dẫn đến dao động tắt. Đợi 10 min để tạo sự cân bằng giữa dung môi và pha hơi.

8.2 Mẫu trắng thuốc thử

8.2.1 Dùng dụng cụ phân phối (5.3) cho 9,90 ml hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (4.1) vào ống nghiệm (5.8).

8.2.2 Dùng micropipet (5.5) cho 0,05 ml dung dịch amoni thiocyanat (4.3) vào hỗn hợp trong ống nghiệm và trộn.

8.2.3 Dùng micropipet (5.5) thêm 0,05 ml dung dịch sắt(II) clorua (4.2) vào hỗn hợp trong ống nghiệm và trộn lại.

8.2.4 Chuyển hỗn hợp mẫu trắng thuốc thử thu được vào cuvet đo quang (5.7). Đậy nắp cuvet và để yên 10 min cho hỗn hợp cân bằng.

Đo độ tắt quang, E_1 , của hỗn hợp mẫu trắng thuốc thử so với hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (4.1). Thực hiện phép xác định mẫu trắng thuốc thử ít nhất bốn lần.

8.2.5 Các kết quả thu được (E_1) phải nằm trong dải 0,010 đơn vị tắt. Giá trị trung bình E_m của mẫu trắng thuốc thử không được vượt quá 0,030 đơn vị. Nếu không đáp ứng được các yêu cầu này thì kiểm tra lại quy trình đo quang, dụng cụ thủy tinh và thuốc thử. Hiệu chỉnh lại quy trình hoặc thay thuốc thử nếu cần.

8.3 Mẫu thử trắng

8.3.1 Cân khoảng 0,33 g mẫu thử đã chuẩn bị (xem 7.2 hoặc 7.3), chính xác đến 1 mg, cho vào ống nghiệm (5.8).

TCVN 9967:2013

8.3.2 Dùng bộ phân phối (5.3) thêm ngay 9,60 ml hỗn hợp metanol/1-decanol/n-hexan (4.1) vào mẫu thử đựng trong ống nghiệm. Trộn nhẹ để hòa tan chất béo của mẫu.

8.3.3 Dùng micropipet (5.5) thêm 0,05 ml dung dịch amoni thiocyanat (4.3) và trộn.

8.3.4 Chuyển hỗn hợp mẫu thử trắng vào cuvet đo quang (5.7). Đậy nắp cuvet và để yên 10 min cho hỗn hợp cân bằng. Đo độ tắt quang (E_0) của mẫu thử trắng so với hỗn hợp metanol/1-decanol/n-hexan (4.1).

8.3.5 Hiệu chỉnh độ tắt quang (E_0) của mẫu thử trắng thu được trong 8.3.4 về sự chênh lệch khối lượng của phần mẫu thử trắng và của phần mẫu thử bằng công thức sau:

$$E_0 = E_0 \times m/m_0$$

Trong đó:

E_0 là độ tắt quang của mẫu thử trắng đã hiệu chỉnh;

E_0 là độ tắt quang của mẫu thử trắng (8.3.4);

m_0 là khối lượng của mẫu thử trắng (8.3.1);

m là khối lượng của mẫu thử (8.4.1).

8.4 Phần mẫu thử

8.4.1 Cân khoảng 0,33 g mẫu thử đã chuẩn bị (xem 7.2 hoặc 7.3), chính xác đến 1 mg, cho vào ống nghiệm (5.8).

8.4.2 Dùng bộ phân phối (5.3) thêm ngay 9,60 ml hỗn hợp metanol/1-decanol/n-hexan (4.1) vào phần mẫu thử đựng trong ống nghiệm. Trộn nhẹ để hòa tan chất béo của mẫu.

8.4.3 Dùng micropipet (5.5) thêm 0,05 ml dung dịch amoni thiocyanat (4.3) vào hỗn hợp trong ống nghiệm và trộn.

8.4.4 Dùng micropipet (5.5) thêm 0,05 ml dung dịch sắt(II) clorua (4.2) vào hỗn hợp trong ống nghiệm và trộn lại.

8.4.5 Chuyển hỗn hợp mẫu thử vào cuvet đo quang (5.7). Đậy nắp cuvet và để yên 10 min cho hỗn hợp cân bằng. Đo độ tắt quang (E_2) của mẫu thử so với hỗn hợp metanol/1-decanol/n-hexan (4.1).

8.4.6 Có thể thực hiện các quy trình 8.3 và 8.4 cùng một lần bằng cách sử dụng một cuvet đo quang riêng có kích thước phù hợp. Tiến hành theo 8.3.1 đến hết 8.3.3. Đo độ tắt quang của mẫu thử trắng,

E_0 , so với hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan như trong 8.3.4. Sau đó tiến hành theo 8.4.4 bằng cách bổ sung và trộn trực tiếp 0,05 ml dung dịch sắt(II) clorua (4.2) trong cuvet đo quang và đo độ tắt quang của mẫu thử (E_2) như trong 8.4.5.

8.5 Hệ số tắt của phức chất sắt(III) màu đỏ

Dùng bộ phân phối (5.4) thêm 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml và 2,0 ml dung dịch chuẩn sắt(III) clorua (4.4), tương ứng vào bốn ống nghiệm (5.8) để thu được một dãy các dung dịch chứa lần lượt 5 µg, 10 µg, 15 µg và 20 µg Fe^{3+} .

Dùng bộ phân phối (5.3) thêm lần lượt 9,4 ml, 8,9 ml, 8,4 ml và 7,9 ml hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (4.1) vào dãy bốn ống nghiệm để có được mỗi ống chứa 9,9 ml hỗn hợp.

Dùng micropipet (5.5) thêm vào bốn ống nghiệm, mỗi ống 0,05 ml dung dịch amoni thiocyanat (4.3), 0,05 ml dung dịch axit clohydric II (4.6) và trộn.

Chuyển các hỗn hợp phản ứng thu được vào các cuvet đo quang (5.7). Đậy nắp cuvet và để yên 10 min cho hỗn hợp cân bằng. Đo độ tắt quang (E_{Fe}) của mỗi cuvet so với hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan.

Sử dụng các dữ liệu tắt thu được liên quan đến khối lượng Fe^{3+} (tính bằng microgam), tính bằng công thức hồi quy tuyến tính thống kê thích hợp như sau:

$$Y = a + bX$$

Trong đó:

Y là độ tắt quang E_{Fe} , thu được trong cuvet (ống nghiệm);

X là khối lượng Fe^{3+} trong cuvet (ống nghiệm);

a là giao điểm của đường hồi quy với trục y ;

b là hệ số tắt (hồi quy) của phức chất sắt(III) màu đỏ được sử dụng trong phép tính khối lượng Fe^{3+} (xem 9.1.2).

Độ lệch chuẩn, $s_{y,x}$, của công thức hồi quy phải nhỏ hơn 0,010 đơn vị tắt quang. Nếu không đáp ứng thì cần kiểm tra lại quy trình đo quang, dụng cụ thủy tinh và thuốc thử. Hiệu chỉnh lại quy trình hoặc thay thuốc thử nếu cần.

CHÚ THÍCH: Công thức hồi quy có thể mở rộng đến 50 µg Fe mà không mất đi độ tuyến tính (xem Phụ lục A).

9 Tính và biểu thị kết quả

9.1 Tính

9.1.1 Tính độ tắt quang

Tính độ tắt quang, E , của phức chất sắt(III) màu đỏ, theo công thức sau:

$$E = E_2 - (E_0 + E_1)$$

Trong đó:

E_2 là độ tắt quang của mẫu thử đo được trong 8.4.5;

E_0 là độ tắt quang của mẫu thử trắng đã hiệu chỉnh, tính được trong 8.3.5;

E_1 là độ tắt quang của mẫu trắng thuốc thử đo được trong 8.2.4

9.1.2 Tính khối lượng Fe^{3+}

Tính khối lượng Fe^{3+} , m_c , tính bằng microgam, bằng công thức sau:

$$m_c = E/b$$

Trong đó:

E là độ tắt quang của phức chất sắt(III) màu đỏ, tính được trong 9.1.1;

b là độ tắt quang của phức chất sắt(III) màu đỏ, tính được trong 8.5.

9.1.3 Tính trị số peroxit

Tính trị số peroxit của chất béo, PV, biểu thị bằng milimol oxi trên kilogam, bằng công thức sau:

$$PV = \frac{0,5 m_c}{55,84 m}$$

Trong đó:

m_c là khối lượng Fe^{3+} thu được trong 9.1.2, tính bằng microgam (μg);

m là khối lượng của phần mẫu thử (8.4.1), tính bằng gam (g);

55,84 là khối lượng nguyên tử của Fe^{3+} để biểu thị kết quả bằng milimol.

9.2 Biểu thị kết quả

Không làm tròn các giá trị trung gian. Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

10 Độ chụm

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

10.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử độc lập, đơn lẻ, 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 một loại thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,03 mmol oxi trên kilogam.

10.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng một 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 được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,07 mmol oxi trên kilogam.

11 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 đã sử dụng và 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 ảnh hưởng đến kết quả thử;
- e) kết quả thử thu được và nếu kiểm tra về độ lặp lại, thì ghi kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Tóm tắt quy trình và các ví dụ về cách tính

Bảng A.1 đưa ra sơ đồ về quy trình Bảng A.2 và A.3 đưa ra các ví dụ về cách tính.

Bảng A.1 – Sơ đồ về quy trình

	Xác định hệ số tắt									
	Mẫu thử	Mẫu thử trắng	Mẫu trắng thuốc thử	Quy trình chuẩn ($\mu\text{g Fe}$)				Quy trình mở rộng ^a ($\mu\text{g Fe}$)		
				5	10	15	20	30	40	50
Phân mẫu thử (7.2 hoặc 7.3), g	$\pm 0,33$	$\pm 0,33$	—	—	—	—	—	—	—	—
Dung dịch thuốc thử										
Fe(III) (4.4), ml				0,50	1,00	1,50	2,00	3,00	4,00	5,00
Hỗn hợp (4.1), ml	9,60	9,60	9,90	9,40	8,90	8,40	7,90	6,90	5,90	4,90
NH ₄ SCN (4.3), ml	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Fe(II) (4.2), ml	0,05	—	0,05	—	—	—	—	—	—	—
HCl (4.6), ml	—	—	—	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Kết quả đo										
E_c (gần 500 nm)	E_2	E'_0	E_1	E_5	E_{10}	E_{15}	E_{20}	E_{30}	E_{40}	E_{50}

^a Xem Chú thích trong 8.5.

Bảng A.2 – Tính hệ số tắt của phức chất sắt(III) màu đỏ (8.5)

X $\mu\text{g Fe(III)}$	Y $E_{\text{Fe(III)}}$
5	0,141
10	0,283
15	0,423
20	0,562

Ví dụ: $E_{\text{Fe(III)}} = 0,0015 + 0,0281 \mu\text{g Fe(III)}$, dẫn đến hệ số tắt là 0,0281 đơn vị tắt trên microgam sắt.

Bảng A.3 – Tính trị số peroxit (Điều 9)

Mẫu số	Phép đo					Tính kết quả			
	Mẫu thử (m) g	Mẫu thử trắng (m ₀), g	E'_0	E_1	E_2	E	E_0	m_c μg	PV mmol/kg
	0,2909	0,2908	0,019	0,020	0,2040	0,1650	0,0190	5,880	0,18
	0,2915	0,2910	0,037	0,020	0,0940	0,0369	0,0371	1,316	0,04

9.2 Biểu thị kết quả

Không làm tròn các giá trị trung gian. Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

10 Độ chụm

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

10.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử độc lập, đơn lẻ, 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 một loại thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,03 mmol oxi trên kilogam.

10.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng một 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 được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,07 mmol oxi trên kilogam.

11 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 đã sử dụng và 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 ảnh hưởng đến kết quả thử;
- e) kết quả thử thu được và nếu kiểm tra về độ lặp lại, thì ghi kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Tóm tắt quy trình và các ví dụ về cách tính

Bảng A.1 đưa ra sơ đồ về quy trình Bảng A.2 và A.3 đưa ra các ví dụ về cách tính.

Bảng A.1 – Sơ đồ về quy trình

	Xác định hệ số tắt									
	Mẫu thử	Mẫu thử trắng	Mẫu trắng thuốc thử	Quy trình chuẩn ($\mu\text{g Fe}$)				Quy trình mở rộng ^a ($\mu\text{g Fe}$)		
				5	10	15	20	30	40	50
Phần mẫu thử (7.2 hoặc 7.3), g	$\pm 0,33$	$\pm 0,33$	—	—	—	—	—	—	—	—
Dung dịch thuốc thử										
Fe(III) (4.4), ml				0,50	1,00	1,50	2,00	3,00	4,00	5,00
Hỗn hợp (4.1), ml	9,60	9,60	9,90	9,40	8,90	8,40	7,90	6,90	5,90	4,90
NH ₄ SCN (4.3), ml	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Fe(II) (4.2), ml	0,05	—	0,05	—	—	—	—	—	—	—
HCl (4.6), ml	—	—	—	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Kết quả đo										
E_c (gần 500 nm)	E_2	E'_0	E_1	E_5	E_{10}	E_{15}	E_{20}	E_{30}	E_{40}	E_{50}

^a Xem Chú thích trong 8.5.

Bảng A.2 – Tính hệ số tắt của phức chất sắt(III) màu đỏ (8.5)

X $\mu\text{g Fe(III)}$	Y $E_{\text{Fe(III)}}$
5	0,141
10	0,283
15	0,423
20	0,562

Ví dụ: $E_{\text{Fe(III)}} = 0,0015 + 0,0281 \mu\text{g Fe(III)}$, dẫn đến hệ số tắt là 0,0281 đơn vị tắt trên microgam sắt.

Bảng A.3 – Tính trị số peroxit (Điều 9)

Mẫu số	Phép đo					Tính kết quả			
	Mẫu thử (m) g	Mẫu thử trắng (m ₀), g	E'_0	E_1	E_2	E	E_0	m_c μg	PV mmol/kg
	0,2909	0,2908	0,019	0,020	0,2040	0,1650	0,0190	5,880	0,18
	0,2915	0,2910	0,037	0,020	0,0940	0,0369	0,0371	1,316	0,04

Phụ lục B
(Tham khảo)

Kết quả thử liên phòng thử nghiệm

Một phép thử cộng tác quốc tế gồm 11 phòng thử nghiệm của 7 nước tham gia thử nghiệm trên hai mẫu khác nhau của tám mẫu chất béo sữa dạng khan. Phép thử này do Trung tâm Nghiên cứu nông nghiệp (CRA) thực hiện tại Bỉ.

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 dữ liệu về độ chụm như trong Bảng B.1.

Bảng B.1 – Các kết quả thu được của phép thử liên phòng thử nghiệm

	Mẫu chất béo sữa dạng khan								Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Số phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ ^a	9	9	9	9	9	9	8 ^b	8 ^b	
Giá trị trung bình ^c	1,049	0,699	0,607	0,445	0,308	0,271	0,913	0,690	0,618
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r ^c	0,040	0,021	0,024	0,015	0,014	0,011	0,015	0,017	0,022
Hệ số biến thiên lặp lại ^d	3,77	2,94	3,92	3,47	4,47	4,08	1,62	2,40	3,56
Giới hạn lặp lại, r ($= 2,8 s_r$) ^c	0,111	0,058	0,067	0,043	0,038	0,031	0,041	0,046	0,06
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R ^c	0,061	0,052	0,041	0,035	0,042	0,030	0,058	0,050	0,047
Hệ số biến thiên tái lập ^d	5,82	7,38	6,83	7,83	13,62	11,01	6,34	7,20	7,61
Giới hạn tái lập, R ($= 2,8 s_R$) ^c	0,171	0,144	0,116	0,098	0,117	0,084	0,162	0,139	0,13

^a Các kết quả của hai phòng thử nghiệm đã bị loại vì khó thực hiện phương pháp hoặc cho các giá trị mẫu trắng thuộc thử cạo. Do đó chỉ giữ lại kết quả của chín phòng thử nghiệm để đánh giá thống kê.

^b Đã loại các phòng ngoại lệ.

^c Các giá trị được biểu thị theo mili đương lượng oxy trên kilogam. Để biểu thị kết quả theo millimol (= đơn vị SI) chia chúng cho 2.

^d Các giá trị được biểu thị bằng phần trăm (%).

Phụ lục C
(Tham khảo)

Thử nghiệm so sánh

C.1 Lý do sử dụng hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan

Vi lý do sinh thái, nên hỗn hợp cloroform/metanol (tỷ lệ 7:3 phần thể tích) được sử dụng trong ISO 3976:1977 và IDF 74A:1991 đã được thay bằng hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (tỷ lệ 3:2:1 phần thể tích).

CHÚ THÍCH: Hỗn hợp cloroform/metanol có mùi rất khó chịu, nhưng một số quốc gia vẫn thích sử dụng hỗn hợp này.

C.2 So sánh các kết quả thu được khi sử dụng thuốc thử cũ và thuốc thử mới

Để so sánh, một số đặc tính thực hiện của cả hai hỗn hợp dung môi được đưa ra trong Hình C.1 và Bảng C.1.

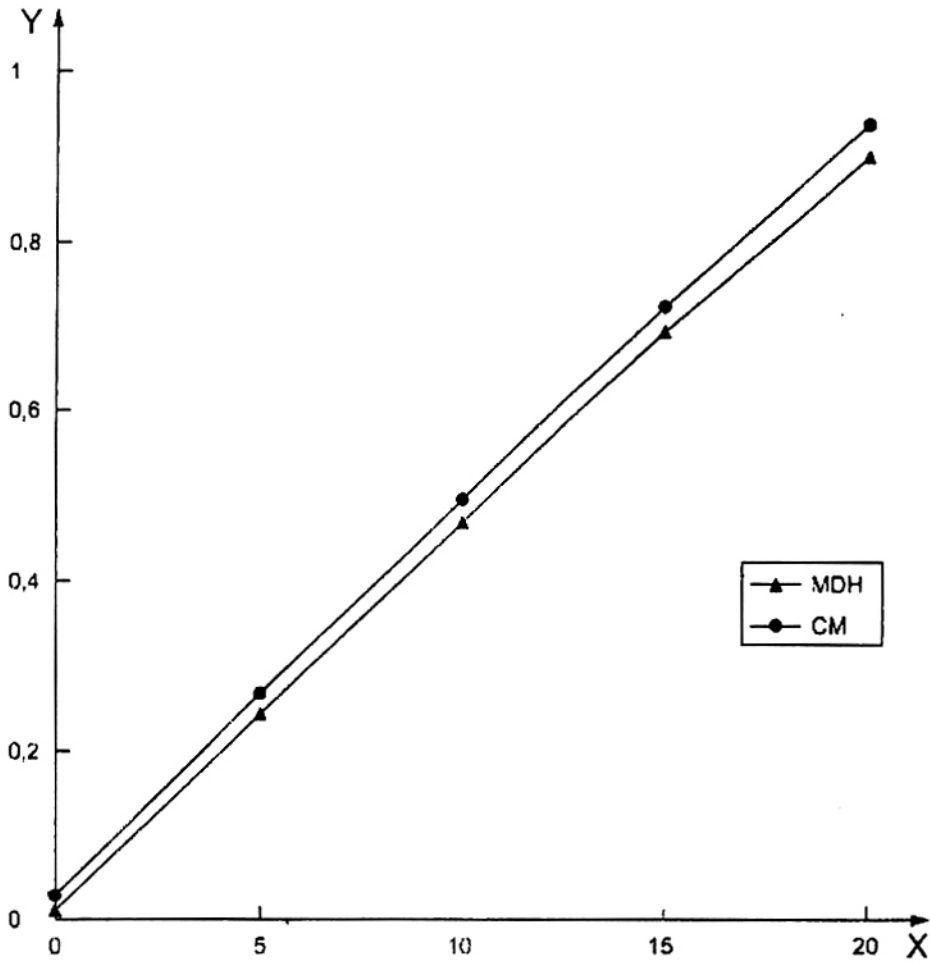
Hình C.1 cho thấy các đường chuẩn được xác định bằng cách sử dụng phương pháp trong ISO 3976:1977 hoặc IDF 74A:1991, dùng hỗn hợp thuốc thử cloroform/metanol (CM) hoặc được thay bằng hỗn hợp methanol/1-decanol/*n*-hexan (MDH).

Bảng C.1 cho thấy các trị số peroxit, biểu thị bằng milli đương lượng oxi trên kilogam của 26 mẫu chất béo sữa được xác định bằng phương pháp trong ISO 3976:1977 hoặc IDF 74A:1991 sử dụng hỗn hợp thuốc thử cloroform/metanol (CM) hoặc hỗn hợp metanol/1-decanol/*n*-hexan (MDH) thay thế.

C.3 Kết luận

Trị số peroxit trung bình của 26 mẫu chất béo sữa thu được khi sử dụng hai loại hỗn hợp thuốc thử này có sự chênh lệch không đáng kể.

Độ lặp lại, độ nhạy của phương pháp, độ tuyến tính của các đường chuẩn và độ hấp thụ mẫu trắng khi sử dụng hai loại hỗn hợp thuốc thử này là tương đương nhau.

**CHÚ DẪN:**

X là khối lượng của Fe^{3+} , μg

Y là độ hấp thụ.

Hình C.1 – Đường chuẩn khi sử dụng hỗn hợp thuốc thử cloroform/metanol (CM) và metanol/1-decanol/n-hexan (MDH)

Bảng C.1 – Các trị số peroxit của 26 mẫu chất béo sữa sử dụng hỗn hợp cloroform/metanol (7:3) (CM) hoặc metanol/1-decanol/n-hexan (3:2:1) (MDH) làm dung môi

Mẫu	Dung môi CM			Dung môi MDH		
	Trị số peroxit (meq/kg)*			Trị số peroxit (meq/kg)		
	Kết quả 1	Kết quả 2	Trung bình	Kết quả 1	Kết quả 2	Trung bình
1	0,036	0,030	0,033	0,036	0,028	0,032
2	0,384	0,395	0,390	0,361	0,376	0,369
3	0,100	0,101	0,101	0,102	0,102	0,102
4	0,027	0,027	0,027	0,038	0,037	0,038
5	0,061	0,092	0,077	0,058	0,052	0,055
6	0,072	0,072	0,072	0,069	0,075	0,072
7	0,078	0,080	0,079	0,068	0,071	0,070
8	0,096	0,086	0,091	0,091	0,091	0,091
9	0,080	0,083	0,082	0,137	0,100	0,119
10	0,104	0,082	0,093	0,101	0,104	0,103
11	0,037	0,034	0,036	0,048	0,055	0,052
12	0,070	0,070	0,070	0,088	0,077	0,083
13	0,375	0,379	0,377	0,339	0,342	0,341
14	0,052	0,058	0,055	0,045	0,030	0,038
15	0,041	0,039	0,040	0,035	0,034	0,035
16	0,040	0,030	0,035	0,020	0,034	0,027
17	0,060	0,045	0,053	0,054	0,050	0,052
18	0,062	0,043	0,053	0,040	0,041	0,041
19	0,031	0,038	0,035	0,057	0,050	0,054
20	0,054	0,052	0,053	0,062	0,064	0,063
21	0,037	0,046	0,042	0,034	0,039	0,037
22	0,062	0,065	0,064	0,056	0,059	0,058
23	0,147	0,142	0,145	0,105	0,119	0,112
24	0,098	0,076	0,087	0,059	0,054	0,057
25	0,034	0,018	0,026	0,033	0,035	0,034
26	0,059	0,050	0,055	0,071	0,065	0,068
Trung bình			0,087			0,084
Độ lặp lại			0,023			0,020

* Các giá trị được biểu thị theo mili đương lượng oxy trên kilogam. Để biểu thị kết quả theo milimol (= đơn vị SI) chia chúng cho 2.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*
 - [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 lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.*
 - [4] IDF 68A:1977, *Anhydrous milk fat, anhydrous butteroil or anhydrous butterfat, butteroil or butterfat, ghee – Standards of identity*
 - [5] AOAC 920.160, *Determination of peroxide values.*
-