TCVN

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 6270 : 1997

ISO 6732 : 1985 (E)

SỮA VÀ CÁC SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG SẮT – PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)

Milk and milk products – Determination of iron content – – Spectrometric method (Reference method)

THƯ VIỆN

HÀ NỘI – 1997

Lời nói đầu

TCVN 6270 : 1997 hoàn toàn tương đương với ISO 6732 : 1985 (E)

TCVN 6270 : 1997 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F12 Sữa và sản phẩm sữa biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

TỔNG CỤC TIÊU CHUẨN ĐO LƯỜNG CHẤT LƯỢNG
BẢN GỐC TCVN

Sữa và các sản phẩm sữa - Xác định hàm lượng sắt - Phương pháp quang phổ (Phương pháp chuẩn)

Milk and milk products - Determination of iron content - - Spectrometric method (Reference method)

1 Phạm vi và lĩnh vực áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp quang phổ chuẩn để xác định hàm lượng sắt trong sữa và sản phẩm sữa. Phương pháp này áp dụng cho:

- sữa, sữa gầy, dịch tách ra khi sản xuất phomat và bơ loãng;
- sữa chua thường và sữa chua đã tách chất béo;
- sữa đặc và sữa đặc có đường;
- sữa bột nguyên chất và sữa bột gầy, bột của dịch tách ra khi sản xuất phomat và bột bơ loãng;
- váng kem và bơ;
- chất béo của sữa [1];
- kem lạnh;
- pho mát ở các thời kỳ khác nhau và pho mát chế biến;
- casein, caseinat và protein hỗn hợp.

Chú thích - Phương pháp này đòi hỏi kinh nghiệm trong phân tích vết và thực hiện cẩn thận. Trong khi tiến hành, cần có sự chú ý đặc biệt về vấn đề nhiễm bẩn mà có thể ảnh hưởng đến độ chính xác và độ lặp lại của phương pháp.

[1] Thuật ngữ "butterfat" bao gồm tất cả các sản phẩm được nêu trong IDF tiêu chuẩn 68A; milkfat khan,...

Do đó cần:

- phải giữ thuốc thử, dụng cụ thủy tinh và môi trường của phòng thí nghiệm càng sạch càng tốt (việc nhiễm bẩn do gỉ kim loại là đặc biệt nguy hiểm);
- mỗi phòng thí nghiệm phải thấy được và kiểm tra các nguồn gốc gây nhiễm bẩn của mình;
- sự khác nhau giữa hai giá trị thử mẫu trắng phải càng thấp càng tốt (nhìn chung, sự khác nhau này phải không được vượt quá 0,004 đơn vị hấp thụ);
- tính năng của phương pháp này được kiểm tra bằng cách phân tích sữa bột (hoặc 1 sản phẩm sữa khác) đã được biết trước hoặc đã được chứng nhận về hàm lượng sắt.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

ISO 707 Sữa và các sản phẩm của sữa – Các phương pháp lấy mẫu.

3 Định nghĩa

Những định nghĩa sau đây được áp dụng cho tiêu chuẩn này.

Hàm lượng sắt (của sữa hoặc sản phẩm sữa): là toàn bộ các chất được xác định bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

Hàm lượng sắt thường được tính theo tỷ lệ khối lượng và được biểu thị bằng miligam trên kilôgam mẫu thử.

4 Nguyên tắc

Thủy phân chất hữu cơ bằng hỗn hợp axit nitric và axit sunfuric, trong trường hợp váng kem và chất béo của sữa thì trước đó phải loại bỏ chất béo. Trong trường hợp đối với bơ thì tách và vô cơ hoá phần dịch trong.

Khử ion sắt (III) thành ion sắt (II) bằng batophenantrolin. Chiết hợp chất sắt (II) bằng cồn isoamylic. Đo quang phổ của độ hấp thụ ở bước sóng 533 nm của dung dịch màu đỏ thu được.

5 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử phải thuộc loại đặc biệt tinh khiết phân tích và các dung dịch sắt chuẩn (5.13 và 5.14) không được chứa ion sắt. Nước để sử dụng phải đạt các yêu cầu của TCVN 4851:1989 (ISO 3696), loại 2.

Chú thích – Dùng các thuốc thử Aristar, Suprapur hoặc Ultrex hoặc loại có độ tinh khiết tương đương, là yêu cầu nghiêm ngặt đối với thuốc thử ở các điều 5.5, 5.6, 5.7 và 5.8. Xem chú thích ở 8.4.

5.1 Etanola, khoảng 96% (*V/V*)

Nếu cần, chưng cất bằng thiết bị chưng cất không chứa sắt.

5.2 Dietyl ete

Nếu cần, chưng cất bằng thiết bị chưng cất không chứa sắt.

5.3 Dầu nhẹ, nhiệt độ sôi từ 40°C đến 60°C

Nếu cần, chưng cất bằng thiết bị chưng cất không chứa sắt.

5.4 Axit nitric đậm đặc ρ_{20} = 1,42 g/ml

Chưng cất bằng thiết bị chưng cất không chứa sắt, loại bỏ 50 ml nước cất lần đầu. Không được bảo quản axit nitric trong chai thủy tinh màu nâu.

5.5 Axit sunfuric đậm đặc ρ_{20} = 1,84 g/ml.

5.6 Kali sunfat, dung dịch trong axit sunfuric

Hoà tan 25 g kali sunfat khô (K_2SO_4) trong axit sunfuric (5.5) và thêm axit sunfuric này đến 100 ml. Lọc dung dịch qua phễu lọc bằng thủy tinh xốp không chứa sắt, có độ xốp P100 (đường kính lỗ từ 40 µm đến 100 µm), không được hút.

Chú thích – Nếu kali sunfat có chứa sắt thì làm sạch như sau:

Hòa tan 40 g kali sunfat trong 500 ml nước và thêm 3 ml dung dịch clorua hidroxilamoni (5.9). Chiết dung dịch này bằng 10 ml dung dịch batophenantrolin (5.11). Loại bỏ lớp trên cùng. Lặp lại hai thao tác này cho đến khi lớp trên cùng còn lại không màu. Cho bay hơi nước trong tủ khô sạch.

5.7 Hidro peroxit, dung dịch ρ_{20} = 1,099 g/ml đến 1,103 g/ml. Bảo quản trong tủ lạnh.

5.8 Natri axetat, dung dịch bão hòa

Hòa tan 232,5 g natri axetat khan (CH_3COONa) trong 500 ml nước.

Chú thích – Nếu natri axetat còn chứa sắt thì làm sạch như sau:

Hòa tan 232,5 g natri axetat trong 500 ml nước. Lọc qua giấy lọc. Thêm 3 ml dung dịch clorua hidroxylamoni (5.9). Chiết dung dịch bằng 10 ml dung dịch batophenantrolin (5.11). Loại bỏ lớp trên cùng. Lặp lại hai thao tác này cho đến khi lớp trên cùng còn lại không màu.

5.9 Hidroxylamoni clorua, dung dịch

Hòa tan 20 g hidroxylamoni clorua ($HONH_3Cl$) trong nước và thêm nước để có được 100 ml. Lọc qua giấy lọc. chiết dung dịch bằng 5 ml dung dịch batophenantrolin (5.11). Để cho các lớp tách nhau hoàn toàn. Loại bỏ lớp trên cùng. Lặp lại hai thao tác này cho đến khi lớp trên cùng còn lại không màu.

Chú thích

1) Thông thường chiết năm lần là đủ.

2) Nếu dung dịch được chuẩn bị quá 24 h trước khi sử dụng, nên lặp lại việc chiết bằng batophenantrolin.

3) Có thể dùng dung dịch axit atcobic mới pha để thay cho dung dịch hidroxylamoni clorua như chất khử. Dung dịch axit atcobic này có thể chuẩn bị bằng cách hòa tan 10 g axit atcobic trong 100 ml nước. Dung dịch này cũng cần được chiết bằng dung dịch batophenantrolin đúng theo cách đã mô tả đối với dung dịch hidroxilamoni clorua. Cần bảo quản dung dịch này trong tủ lạnh. Có thể dùng 3 ml dung dịch axit atcobic này để thay thế cho 3 ml dung dịch hidroxilamoni clorua trong 5.6, 5.8 và 8.3.1.4.

5.10 Cồn isoamylic (3 metyl - 1 butanola)

Nếu cần, chưng cất bằng thiết bị chưng cất không chứa sắt.

5.11 Batophenantrolin, dung dịch

Hòa tan 83,1 mg batophenantrolin [4,7 diphenyl-1,10-phenantrolin ($C_{24}H_{16}N_2$)] trong 100 ml cồn isoamylic (5.10).

5.12 Kali pemanganat, dung dịch

Hòa tan 100 mg kali pemanganat ($KMnO_4$) trong 50 ml nước.

5.13 Sắt, dung dịch chuẩn tương ứng với 1 000 mg sắt trên lít

Hòa tan 7,022 g sắt (II) amôni sunfat ngậm 6 phân tử nước [$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$] trong 250 ml nước. Thêm 8 ml axit sunfuric (5.5) và để nguội đến nhiệt độ phòng. Pha loãng bằng nước đến 1 000 ml.

1 ml dung dịch chuẩn này chứa 1 mg sắt.

Chú thích – Những chế phẩm có chứa chính xác 1 000 mg sắt có thể dùng để thay cho sắt (II) amôni sunfat ngậm 6 phân tử nước. Những chế phẩm như vậy có bán sẵn trên thị trường.

5.14 Sắt, dung dịch chuẩn tương ứng với 1 mg sắt trên lít

Trong ngày sử dụng, dùng pipét lấy 1 ml dung dịch sắt chuẩn (5.13) cho vào 250 ml nước. Thêm 1 ml axit sunfuric (5.5) và pha loãng bằng nước đến 1 000 ml.

1 ml dung dịch chuẩn này chứa 1 µg sắt.

6 Thiết bị, dụng cụ

Giữ dụng cụ thủy tinh sạch, kể cả bi thủy tinh (6.8) trong dung dịch axit nitric 10% (m/m). Trước khi dùng rửa ba lần bằng nước cất sau đó lại tráng ba lần bằng nước cất hai lần. Nếu cần, làm khô bằng cách tráng lần lượt bằng etanola và bằng dietyl ete.

Sử dụng các thiết bị thông thường của phòng thí nghiệm và đặc biệt là:

6.1 Cân phân tích.

6.2 Máy li tâm, có khả năng tạo gia tốc quay 2 500 g với các ống có dung tích ít nhất 150 ml.

6.3 Dụng cụ nghiền, phù hợp với mẫu.

6.4 Rây có lỗ với kích thước 0,5 mm, làm bằng vật liệu không chứa sắt.

6.5 Nồi cách thủy.

6.6 Đầu đốt nhỏ, loại không phát ra các hạt chứa sắt.

Chú thích – Có thể cho phép dùng lò điện.

6.7 Bình Keldan có dung tích khoảng 70ml, có nút mài thủy tinh được chia độ từ đáy đến cổ bình 50 ml.

6.8 Bi thủy tinh hoặc hạt thạch anh, hạt này không được giải phóng sắt trong quá trình thủy phân (8.3.1).

6.9 Ống đong chia độ, có dung tích 5 ml, 10 ml và 25 ml.

6.10 Pipét chia độ, dung tích 1 ml, 2 ml và 5 ml, chia độ từng khoảng 0,1 ml, phù hợp với qui định của ISO 835.

6.11 Pipét một vạch 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml, 10 ml và 25 ml, phù hợp với qui định của ISO 648, loại A.

6.12 Phổ kế, thích hợp để đo độ hấp thụ ở sóng 533 nm, được trang bị các cuvét dày 10 mm.

7 Lấy mẫu

Chú thích – Tránh bị nhiễm bẩn do sắt.

7.1 Lấy mẫu theo ISO 707.

Bảo quản các bình thủy tinh để lấy mẫu trong dung dịch axit nitric 10% (m/m).

Các bình được tráng kỹ và sấy khô trước khi sử dụng.

7.2 Bảo quản mẫu sao cho không bị hư hỏng và không bị thay đổi thành phần.

8 Cách tiến hành

Chú thích – Tránh bị nhiễm bẩn do sắt.

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

8.1.1 Sữa, sữa gầy và dịch tách ra khi sản xuất phomát

Đưa mẫu về nhiệt độ 20°C ± 2°C và trộn thật đều.

Nếu trong trường hợp sữa có mỡ phân tán không đều, thì hâm nóng mẫu từ từ đến 40°C, trộn nhẹ chỉ bằng cách đảo chiều và làm nguội thật nhanh đến 20°C ± 2°C.

8.1.2 Bơ loãng

Nếu cần, loại bỏ các hạt bơ. Đưa mẫu về nhiệt độ 20°C ± 2°C và trộn thật kỹ trước khi cân (8.2.1).

8.1.3 Sữa chua thường và sữa chua tách chất béo

Đưa mẫu về nhiệt độ 20°C ± 2°C và trộn thật kỹ . Nếu tách huyết thanh, khuấy thật mạnh ngay trước khi cân (8.2.1).

8.1.4 Váng kem

Đưa mẫu về nhiệt độ 20°C ± 2°C. Trộn hoặc khuấy thật kỹ, nhưng không quá mạnh vì sẽ gây ra bọt váng hoặc tạo bơ.

Nếu váng kem quá đặc, hoặc nếu chất béo phân tán không đều, đun nóng từ từ đến 40°C để dễ trộn.

Làm nguội nhanh mẫu thử đến 20°C ± 2°C. Khuấy mẫu trong bình chứa thật kỹ. Khuấy cho đến khi toàn bộ khối lượng mẫu đồng nhất. Đóng nắp bình chứa lại.

Chú thích – Sẽ không thu được kết quả đúng nếu mẫu không được trộn một cách kỹ càng hoặc nếu thấy mẫu có dấu hiệu tạo bơ hoặc có những dấu hiệu khác.

8.1.5 Sữa đặc

Lắc hộp đựng thật kỹ, thỉnh thoảng đảo chiều. Mở hộp và rót sữa từ từ vào một bình chứa khác bằng thủy tinh, có nắp kín, cẩn thận lấy hết các chất béo hoặc các thành phần khác bám ở thành hộp ban đầu cho vào mẫu. Khuấy thật mạnh và đậy nắp bình lại.

Đun nóng bình đã đậy nắp trong nồi cách thủy từ 40°C đến 60°C. Cứ 15 phút lại lấy bình ra và lắc mạnh. Sau 2 giờ, lấy hẳn bình ra và làm nguội đến 20°C ± 2°C. Mở nắp và khuấy kỹ mẫu bằng thìa hoặc bằng dao trộn.

Chú thích – Nếu chất béo tách ra thì kết quả thử sẽ không đúng.

8.1.6 Sữa đặc có đường

Mở nắp hộp và trộn đều sữa bằng thìa hoặc dao trộn, trộn kỹ từ trên xuống dưới sao cho các lớp sữa ở đáy và ở trên được trộn lẫn với nhau. Cẩn thận lấy hết cho vào mẫu tất cả sữa bám ở thành hộp và đáy hộp.

Chuyển hết mẫu sang bình thứ hai bằng thủy tinh, có nắp đậy kín và đóng nắp lại. Đun nóng bình đã đậy nắp bằng nồi cách thủy từ 30°C đến 40°C. Làm nguội đến 20°C ± 2°C. Trộn mẫu trong bình thật kỹ. Khuấy cho đến khi toàn bộ lượng mẫu đồng nhất. Đóng nắp bình lại.

Trong trường hợp ống có thể gấp lại, mở ống và chuyển chất chứa trong đó sang bình thủy tinh. Cắt mở ống và chuyển hết lượng mẫu và tất cả phần còn bám vào thành trong của ống sang bình thủy tinh.

8.1.7 Sữa bột nguyên chất, sữa bột gầy, bột của dịch tách ra khi sản xuất phomat và bột bơ loãng

Chuyển mẫu sang bình chứa có thể tích gấp đôi thể tích mẫu và có nắp đậy kín. Đậy ngay nắp bình lại. Trộn mẫu thật kỹ bằng cách lắc và đảo chiều liên tục bình chứa.

8.1.8 Bơ

Chú thích – Vì có khả năng sắt có thể phân bố không đồng nhất trong bơ nên sắt được xác định trong dịch trong. Hàm lượng sắt của phần chất béo được tách ra từ bơ theo cách được mô tả là không đáng kể so với hàm lượng có trong huyết thanh và có thể bỏ qua.

Cân 100 g mẫu, chính xác tới 100 mg, cho vào ống quay li tâm trước đó đã được sấy khô (6.2). Đặt ống vào nồi cách thủy duy trì nhiệt độ ở 45°C ± 1°C. Ngay sau khi bơ tan hết, cho ống vào máy li tâm chạy với gia tốc quay 2 500 g. Dùng pipét lấy lớp chất béo màu sáng, càng nhiều càng tốt. Chiết bằng 10 ml dầu nhẹ (5.3) và dung pipet loại bỏ lớp trên cùng. Lặp lại hai thao tác này hai lần. Loại bỏ dầu nhẹ còn lại bằng cách làm ấm trong nồi cách thủy ở 65°C ± 1°C. Dùng giấy sạch lau khô mặt ngoài của ống. Làm nguội đến 20°C ± 2°C. Cân ống cùng chất chứa bên trong, chính xác tới 100 mg. Trộn chất trong ống thật kỹ, ngay trước khi cân mẫu thử (8.2.5).

8.1.9 Chất béo của sữa

Đưa mẫu về nhiệt độ 40°C, duy trì nhiệt độ này trong 5 phút và khuấy nhẹ. Làm nguội đến 20°C ± 2°C.

8.1.10 Kem lạnh

Đối với mẫu lấy trong các gói nhỏ, bóc bao gói và cho mẫu vào bình có nắp đậy kín. Đối với mẫu lấy từ khối kem hoặc từ bao gói lớn thì giữ nguyên chúng trong hộp chứa. Trong cả hai trường hợp, làm mẫu nóng chảy bằng cách đặt bình mẫu vào nồi cách thủy ở 45°C ± 1°C trong một khoảng thời gian đủ để làm mẫu trở thành dạng lỏng. Lắc bình để trộn mẫu. Làm nguội đến 20°C ± 2°C, tiếp tục trộn cho đến nguội.

8.1.11 Phomát và phomát chế biến

Cắt bỏ vỏ, vết bẩn hoặc chỗ bị mốc khỏi phomát, lấy mẫu đại diện của loại phomát tiêu thụ thông thường. Dùng dụng cụ nghiền (6.3) thích hợp để nghiền mẫu. Khuấy nhanh toàn bộ cả khối và lại nghiền nhanh một lần nữa (nếu mẫu không thể nghiền nhỏ, trộn toàn bộ mẫu thật kỹ).

Chuyển ngay mẫu đã xử lý sơ bộ, hoặc một phần đại diện của mẫu sang bình có nắp đậy kín. Phân tích mẫu ngay sau khi nghiền xong mẫu, càng nhanh càng tốt. Phomát đã nghiền mà thấy có nấm mọc ngoài ý muốn hoặc bắt đầu hỏng thì không tiếp tục phân tích nữa.

8.1.12 Casein, caseinat và protein hỗn hợp

8.1.12.1 Nếu phần lớn mẫu đủ mịn để có thể lọt qua sàng (6.4) được thì không cần phải nghiền nữa.

Lấy khoảng 50 g mẫu cho vào bình chứa có dung tích gấp đôi thể tích mẫu và có nắp đậy kín. Đậy ngay bình lại và trộn bằng cách lắc và đảo chiều bình liên tục.

8.1.12.2 Nếu phần lớn mẫu không đủ mịn để lọt qua sàng (6.4) thì nghiền khoảng 50 g mẫu cho đến khi đủ mịn. Chuyển tất cả mẫu vào bình chứa. Tiến hành tiếp như qui định ở 8.1.12.1.

8.2 Cân và xử lý sơ bộ mẫu thử

8.2.1 Sữa, sữa gầy, dịch tách ra khi sản xuất phomát, bơ loãng và sữa chua

Cân 10 g mẫu thử chính xác tới 10 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định ở 8.3.

8.2.2 Váng kem

Cân 10 g mẫu thử chính xác tới 10 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 8 ml axit nitric (5.4). Đun nóng bình trong nồi cách thủy từ 80°C đến 90°C trong 1 giờ.

Cứ sau 3 phút, lắc mạnh bình để axit nitric rửa chất béo. Làm nguội đến 40°C và loại bỏ bằng pipét càng nhiều càng tốt lớp chất béo.

Thêm 15 ml dầu nhẹ (5.3), xoay cẩn thận và dùng pipet loại bỏ dung môi. Làm lại hai lần dùng mỗi lần 15 ml dầu nhẹ mới. Loại bỏ phần dầu nhẹ còn lại bằng cách làm ấm trong nồi cách thủy ở 65°C. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Thêm 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.3 Sữa đặc và sữa đặc có đường

Cân 2,5 g mẫu thử chính xác đến 1 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 4 ml nước, 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.4 Sữa bột nguyên chất và sữa bột gầy, bột của dịch tách ra khi sản xuất phomát và bột bơ loãng

Cân 1 g mẫu thử chính xác đến 1 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 4 ml nước và trộn kỹ. Sau đó thêm 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.5 Bơ

Cân 2 g huyết thanh bơ (8.1.8) chính xác đến 1 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.6 Chất béo của sữa

Cân 20 g mẫu dạng lỏng chính xác đến 10 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 4 ml nước và 8 ml axit nitric (5.4).

Đun nóng bình Keldan trong nồi cách thủy từ 80°C đến 90°C trong 1 giờ. Cứ 3 phút lắc kỹ bình một lần để axit nitric rửa chất béo. Làm nguội đến 40°C và dùng pipet loại bỏ càng nhiều càng tốt lớp chất béo.

Thêm 15 ml dầu nhẹ (5.3), xoay kỹ và dùng pipét loại bỏ dung môi. Lặp lại hai lần mỗi lần dùng 15 ml dầu nhẹ mới. Loại bỏ phần dầu nhẹ còn lại bằng cách đun nóng nhẹ trong nồi cách thủy ở 65°C. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Thêm 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.7 Kem lạnh

Cân 2,5 g mẫu thử chính xác đến 1 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.8 Phomát và phomát chế biến

Cân 1 g mẫu thử chính xác đến 1 mg cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 4 ml nước, 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.2.9 Casein, caseinat và protein hỗn hợp

Cân 0,75 g mẫu thử đối với trường hợp của casein và caseinat, và 0,35 g chính xác đến 0,1 mg đối với trường hợp protein hỗn hợp, cho vào bình Keldan (6.7). Thêm 4 ml nước, 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6). Tiếp tục theo qui định trong 8.3.

8.3 Xác định

Chú thích – Tiến hành thử mẫu trắng (8.4) đồng thời với việc xác định.

8.3.1 Thủy phân

8.3.1.1 Cho 3 viên bi thủy tinh (thạch anh) (6.8) vào phần mẫu thử chứa trong bình Keldan. Thao tác trong tủ hút hoạt động tốt, đặt bình ở tư thế nghiêng và dùng đầu đốt nhỏ để đốt. Giám sát chiều cao của ngọn lửa để hạn chế tạo bọt trong bình. Cho phép bọt dâng cao đến cổ bình nhưng không được để bọt tràn ra ngoài. Giữ cho hỗn hợp sôi nhẹ và tránh sự quá nhiệt từng phần.

8.3.1.2 Khi dung dịch đã chuyển sang màu nâu, cẩn thận thêm từ 3 đến 5 giọt axit nitric (5.4). Đun nóng mạnh càng nhanh càng tốt. Tiếp tục đun và thêm axit nitric, mỗi lần từ 5 giọt đến 20 giọt, thỉnh thoảng xoay bình để lấy hết các chất bám ở thành bình, cho đến khi nào hỗn hợp còn lại không màu. Làm nguội đến nhiệt độ phòng.

8.3.1.3 Thêm cẩn thận 2 ml nước và 1 ml dung dịch hidro peroxit (5.7). Xoay và đun tiếp cho đến khi có khói trắng. Tránh tổn thất qua bay hơi bằng cách để cho khói axit sunfuric đối lưu trong cổ bình. (Nếu dung dịch chuyển thành màu vàng thì làm nguội đến nhiệt độ phòng. Cho tiếp 0,5 ml dung dịch hidro peroxit và đun cho đến khi có khói trắng bốc lên). Tiếp tục đun thêm 45 phút tính từ khi bắt đầu có khói trắng bốc lên. Làm nguội đến nhiệt độ phòng, thêm nước cẩn thận để tổng thể tính ở khoảng 20 ml.

8.3.1.4 Cho thêm một hoặc hai giọt dung dịch kali pemanganat (5.12) cho đến khi chất thủy phân trở nên màu tím nhạt. Khi đó thêm 3 ml dung dịch hidroxylamoni clorua (5.9) và lắc kỹ. Thêm 20 ml dung dịch natri axetat (5.8) và khoảng 15 ml nước. Lắc kỹ và để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm nước đến vạch 50 ml.

8.3.2 Hiện màu

Dùng pipet lấy 4 ml dung dịch batophenantrolin (5.11) cho vào bình Keldan (xem 8.3.1.4) và đóng bình lại. Lắc bình trong 3 phút, đảm bảo chắc chắn là nắp bình vẫn cố định.

Làm nguội dưới vòi nước chảy ít nhất 10 phút và cẩn thận nghiêng bình vài lần sau khi đã nguội. Giữ bình trong nồi cách thủy ở 25°C ± 1°C trong 1 giờ.

8.4 Thử mẫu trắng

Tiến hành thử mẫu trắng song song với việc xác định, dùng tất cả các thuốc thử như dùng để xác định nhưng thay phần mẫu thử bằng 10 ml nước. Trong suốt quá trình thủy phân, dùng cùng một lượng axit nitric (5.4) và dung dịch hidro peroxit (5.7) như đã dùng để thủy phân phần mẫu thử.

Chú thích – Độ hấp thụ của dung dịch thử mẫu trắng phải tương ứng với ít hơn 0,5 µg sắt. Nếu độ hấp thụ của dung dịch thử mẫu trắng mà tương ứng với nhiều hơn 0,5 µg sắt thì tất cả các thuốc thử phải được kiểm tra lại.

8.5 Đo quang

Dùng pipét lấy (lớp trên) cồn isoamylic cho vào cuvét 10 mm (6.12). Đo độ hấp thụ của lớp cồn isoamylic của dung dịch thử (8.3) và của dung dịch thử mẫu trắng (8.4) ở bước sóng 533 nm dùng nước để so sánh. Lấy độ hấp thụ của phần mẫu thử trừ đi độ hấp thụ của mẫu thử trắng.

8.6 Số lần xác định

Thực hiện tất cả các phép xác định, kể cả thử mẫu trắng (8.4) mỗi loại hai lần.

8.7 Chuẩn bị đồ thị chuẩn

8.7.1 Dùng pipét lấy 0 (thành phần zero); 1 ml; 2 ml; 3 ml; 5 ml và 10 ml dung dịch sắt chuẩn (5.14) cho vào một dãy 6 bình Keldan (6.7). Pha loãng với nước đến khoảng 10 ml. Cho vào mỗi bình 3 ml axit nitric (5.4) và 1,8 ml dung dịch kali sunfat (5.6).

8.7.2 Tiến hành thủy phân như mô tả ở 8.3.1 và hiện màu như mô tả ở điều 8.3.2.

8.7.3 Dùng pipét lấy (lớp trên) cồn isoamylic cho vào cuvét 10 mm (6.12). Đo độ hấp thụ của mỗi lớp cồn isoamylic ở bước sóng 533 nm dùng nước để so sánh. Lấy độ hấp thụ của các dung dịch khác trừ đi độ hấp thụ của dung dịch làm thành phần zero.

8.7.4 Dựng đồ thị các giá trị độ hấp thụ này tương ứng với lượng sắt chứa trong dung dịch hiệu chuẩn.

8.7.5 Hàng tuần phải kiểm tra đồ thị chuẩn.

9 Biểu thị kết quả

9.1 Phương pháp tính và công thức

9.1.1 Các sản phẩm không phải bơ

Hàm lượng sắt được biểu thị bằng miligam trên kilôgam theo công thức: