TCVN TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 6687:2013

ISO 8381:2008

Xuất bản lần 3

THỰC PHẨM TỪ SỮA DÀNH CHO TRẺ SƠ SINH – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT BÉO – PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)

Milk-based infant foods - Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)

HÀ NỘI - 2013

Lời nói đầu

TCVN 6687:2013 thay thế TCVN 6687:2007;

TCVN 6687:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 8381:2008;

TCVN 6687:2013 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.

Thực phẩm từ sữa dành cho trẻ sơ sinh - Xác định hàm lượng chất béo - Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)

Milk-based infant foods - Determination of fat content - Gravimetric method (Reference method)

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 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 quy định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp chuẩn để xác định hàm lượng chất béo trong thực phẩm từ sữa dành cho trẻ sơ sinh.

Phương pháp này có thể áp dụng cho thực phẩm từ sữa dành cho trẻ sơ sinh dạng lỏng, dạng cô đặc hoặc dạng bột, không chứa hoặc không chứa nhiều hơn 5 % khối lượng (tính theo chất khô) của chất bổ sung như tinh bột, dextrin, rau, quả và thịt.

CHÚ THÍCH 1: Các malto-dextrin không chứa các dextrin có phân tử lượng cao hơn thường có mặt trong thực phẩm dành cho trẻ sơ sinh, các malto-dextrin này ngay cả khi có mặt với lượng lớn cũng không cản trở việc chiết bằng quy trình Rose-Gottlieb (RG).

Phương pháp này không áp dụng cho các sản phẩm không hòa tan hoàn toàn trong amoniac do có mặt vài phần trăm tinh bột hoặc dextrin, hoặc các sản phẩm dạng miếng. Tiêu chuẩn này cũng không áp dụng cho các sản phẩm có chứa một lượng đáng kể các axit béo tự do. Các kết quả xác định thu được đối với các loại sản phẩm này sẽ rất thấp.

CHÚ THÍCH 2: Đối với các loại sản phẩm như thế, nên sử dụng phương pháp theo nguyên tắc Weibull-Berntrop (WB) [xem TCVN 6688-1 (ISO 8262-1)][3].

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 7150 (ISO 835), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet chia độ.*

TCVN 7153 (ISO 1042), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức.*

TCVN 8488 (ISO 4788), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Ống đong chia độ.*

ISO 3889, *Milk and milk products – Determination of fat content – Mojonnier-type fat extraction flasks (Sữa và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng chất béo – Bình chiết chất béo kiểu Mojonnier).*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Hàm lượng chất béo của sữa (fat content of milk)

Phần khối lượng của các chất xác định được bằng quy trình quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH: Hàm lượng chất béo được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

4 Nguyên tắc

Chiết dung dịch etanol amoniac của phần mẫu thử bằng dietyl ete và dầu nhẹ. Sau đó chưng cất hoặc làm bay hơi để loại bỏ dung môi. Xác định khối lượng của các chất chiết được.

CHÚ THÍCH: Điều này thường được gọi là nguyên tắc Rose-Gottlieb.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng cả các thuốc thử loại 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.

Tất cả các thuốc thử được sử dụng không được để lại lượng cặn đáng kể khi xác định bằng phương pháp quy định (xem 9.2.2).

5.1 Dung dịch amoniac, chứa NH_3 khoảng 25 % phần khối lượng (ρ_{20} = 910 g/l).

CHÚ THÍCH: Nếu không có sẵn dung dịch amoniac nồng độ này thì có thể sử dụng dung dịch có nồng độ cao hơn đã biết (xem 9.4.2).

5.2 Etanol (C_2H_5OH), hoặc etanol đã bị metanol làm biến tính, có độ tinh khiết tối thiểu là 94 % thể tích (xem A.5).

5.3 Dung dịch đỏ Congo

Hòa tan 1 g đỏ Congo ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) vào nước đựng trong bình định mức một vạch 100 ml (6.14). Thêm nước đến vạch.

CHÚ THÍCH Dung dịch này cho phép phân biệt rõ hơn lớp phân cách giữa dung môi và lớp chất lỏng và việc sử dụng dung dịch này là tuỳ chọn (xem 9.4.4). Có thể sử dụng các dung dịch chỉ thị dạng lỏng khác với điều kiện là không ảnh hưởng đến kết quả xác định.

5.4 Dietyl ete ($C_2H_5OC_2H_5$), không chứa các peroxit (xem A.3), chứa không quá 2 mg/kg chất chống oxi hoá và phù hợp các yêu cầu đối với phép thử trắng (xem 9.2.2, A.1 và A.4).

CẢNH BÁO – Việc sử dụng dietyl ete có thể dẫn đến độc hại. Cần tuân thủ các cảnh báo về an toàn khi xử lý, sử dụng và loại bỏ chúng.

5.5 Dầu nhẹ, có dải nhiệt độ sôi trong khoảng từ 30 °C đến 60 °C, hoặc tương đương như **pentan** ($CH_3[CH_2]_3CH_3$) có điểm sôi ở 36 °C và phù hợp với các yêu cầu của phép thử trắng (xem 9.2.2, A.1 và A.4).

Nên sử dụng pentan vì pentan có độ tinh khiết cao hơn và có chất lượng ổn định hơn.

5.6 Dung môi hỗn hợp

Ngay trước khi sử dụng, trộn các thể tích bằng nhau của dietyl ete (5.4) và dầu nhẹ (5.5).

6 Thiết bị, dụng cụ

CẢNH BÁO – Vì việc xác định cần phải sử dụng các dung môi bay hơi dễ cháy, nên các thiết bị điện được dùng phải tuân theo quy định an toàn trong khi sử dụng các dung môi này.

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

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

6.2 Máy li tâm, có thể giữ các bình hoặc có các ống chiết chất béo (6.6) và có thể quay với tốc độ từ 500 r/min đến 600 r/min để tạo ra được gia tốc hướng tâm từ 80 *g* đến 90 *g* ở miệng bình hoặc ống.

Việc sử dụng máy li tâm là tuỳ chọn, nhưng khuyến cáo sử dụng loại thiết bị này (xem 9.4.7).

6.3 Thiết bị chưng cất hoặc làm bay hơi, để chưng cất các dung môi và etanol ra khỏi bình đun sôi hoặc bình nón, hoặc làm bay hơi từ các cốc có mỏ và các đĩa (xem 9.4.14) ở nhiệt độ không quá 100 °C.

6.4 Tủ sấy, được đốt nóng bằng điện, có cửa thông gió mở hoàn toàn, có thể duy trì được nhiệt độ ở 102 °C ± 2 °C trong toàn bộ khoang sấy.

Tủ có gắn một nhiệt kế thích hợp.

6.5 Nồi cách thuỷ, có thể duỳ trì ở các nhiệt độ từ 30 °C đến 40 °C, từ 40 °C đến 60 °C và từ 60 °C đến 70 °C.

6.6 Bình chiết chất béo kiểu Mojonnier, như quy định trong ISO 3889.

CHÚ THÍCH: Cũng có thể dùng ống chiết chất béo, được gắn với xi phông hoặc nối với chai rửa, nhưng quy trình sẽ có khác đi. Quy trình thay thế được nêu trong Phụ lục B.

Các bình chiết chất béo phải được đậy bằng nút bần chất lượng tốt, hoặc được đậy bằng nắp làm bằng vật liệu khác [ví dụ như cao su silicon hoặc polytetrafluoroetylen (PTFE)] không bị ảnh hưởng bởi thuốc thử được sử dụng. Nút bần phải được chiết bằng dietyl ete (5.4), ngâm ít nhất 15 min trong nước ở nhiệt độ bằng hoặc lớn hơn 60 °C và sau đó được làm nguội trong nước sao cho bão hòa nước khi được sử dụng.

6.7 Giá đỡ, để giữ bình (hoặc ống) chiết chất béo (6.6).

6.8 Chai rửa, thích hợp để dùng với dung môi hỗn hợp (5.6).

Không dùng chai rửa bằng chất dẻo.

6.9 Bình thu nhận chất béo, ví dụ như bình đun sôi (đáy phẳng), dung tích từ 125 ml đến 250 ml, bình nón dung tích 250 ml hoặc các đĩa kim loại.

Nếu sử dụng đĩa kim loại thì tốt nhất là đĩa bằng thép không gỉ, đáy phẳng, đường kính từ 80 mm đến 100 mm và cao khoảng 50 mm.

6.10 Chất trợ sôi, không chứa chất béo, bằng sứ không xốp hoặc silic cacbua (tuỳ chọn trong trường hợp dùng đĩa kim loại).

6.11 Ống đong, dung tích 5 ml và 25 ml, phù hợp với các yêu cầu của loại A nêu trong TCVN 8488 (ISO 4788) hoặc dụng cụ khác thích hợp với sản phẩm liên quan.

6.12 Pipet, được chia độ, dung tích 10 ml, phù hợp với các yêu cầu của loại A nêu trong TCVN 7150 (ISO 835).

6.13 Bộ kẹp, bằng kim loại thích hợp để giữ bình, cốc có mỏ hoặc đĩa.

6.14 Bình định mức, một vạch, dung tích 100 ml, phù hợp với các yêu cầu của loại A nêu trong TCVN 7153 (ISO 1042).

7 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707) [1].

Bảo quản tất cả các mẫu phòng thử nghiệm dạng lỏng, dạng sánh hoặc nhão ở nhiệt độ từ 2 °C đến 6 °C ngay từ thời điểm lấy mẫu cho đến khi tiến hành thử nghiệm. Trong trường hợp mẫu được đựng trong chai hoặc hộp gắn kín thì giữ mẫu trong chai hoặc hộp nguyên không mở và bảo quản ở nhiệt độ dưới 20 °C cho đến khi tiến hành thử nghiệm.

8 Chuẩn bị mẫu thử

8.1 Sản phẩm dạng lỏng

Lắc và đảo chiều hộp chứa mẫu. Mở nắp hộp, rót từ từ sản phẩm sang hộp chứa mẫu thử hai có nắp đậy kín khí. Trộn mẫu bằng cách chuyển qua chuyển lại, cẩn thận tránh để chất béo hoặc bất kỳ thành phần nào khác trong mẫu sót lại trên thành và đáy của hộp thứ nhất. Cuối cùng, chuyển hết mẫu thử sang hộp chứa mẫu thứ hai. Đậy nắp hộp.

Nếu cần, bảo ôn hộp chứa mẫu đã đậy kín vào nồi cách thuỷ (6.5) ở nhiệt độ từ 40 °C đến 60 °C. Cứ 15 min lại lấy hộp chứa ra và lắc mạnh. Sau 2 h, lấy hộp ra, dùng khăn để lau khô mặt ngoài rồi để nguội đến nhiệt độ phòng. Mở hẳn nắp và trộn kỹ lượng chứa bằng thìa hoặc dao trộn. (Nếu chất béo đã tách lớp thì không thử mẫu). Chuyển hết mẫu thử sang hộp chứa mẫu thứ hai có nắp đậy kín khí. Đậy nắp hộp.

8.2 Sản phẩm dạng sánh hoặc nhão

Mở nắp hộp chứa mẫu và trộn kỹ lượng chứa bên trong bằng thìa hoặc dao trộn. Nếu có thể, sử dụng máy quay để trộn từ dưới lên trên sao cho các lớp trên cùng với các phần ở các góc dưới của hộp được trộn đều với nhau. Cẩn thận, tránh để chất béo hoặc bất kỳ thành phần nào khác trong mẫu sót lại trên thành và đáy của hộp chứa. Chuyển hết mẫu thử sang hộp chứa thứ hai có nắp đậy kín khí. Đậy nắp hộp.

Nếu cần, bảo ôn hộp chứa mẫu đã đậy kín vào nồi cách thủy (6.5) ở nhiệt độ từ 30 °C đến 40 °C. Lấy hộp ra, dùng khăn để lau khô mặt ngoài rồi mở nắp hộp. Vét sạch tất cả mẫu thử phía trong hộp. Chuyển mẫu thử vào đĩa đủ rộng để có thể trộn được kỹ cho đến khi thu được mẫu đồng nhất. Chuyển hết mẫu thử sang hộp chứa mẫu thứ hai có nắp đậy kín khí. Đậy nắp hộp.

8.3 Sản phẩm dạng bột

Trộn kỹ bằng cách quay và đảo chiều hộp đựng mẫu. Nếu cần, chuyển toàn bộ mẫu thử sang hộp chứa mẫu kín khí thích hợp, có dung tích đủ rộng để thực hiện thao tác này.

9 Cách tiến hành

CHÚ THÍCH 1 Nếu cần phải kiểm tra sự thoả mãn của giới hạn lặp lại (11.2) thì thực hiện hai phép xác định đơn lẻ theo 9.1 đến 9.4.

CHÚ THÍCH 2 Quy trình khác có sử dụng ống chiết chất béo có xi phông hoặc nối với chai rửa (xem chú thích ở 6.6) được nêu trong Phụ lục B.

9.1 Phần mẫu thử

Nếu mẫu thử (Điều 8) có dạng sánh, nhão hoặc khô thì trộn bằng cách khuấy còn nếu mẫu thử dạng lỏng thì trộn bằng cách đảo chiều hộp đựng mẫu nhẹ nhàng ba lần hoặc bốn lần. Cân ngay từ 1,500 g đến 10,000 g mẫu thử tương ứng với 1,0 g đến 1,5 g chất khô, chính xác đến 1 mg, cho vào bình chiết chất béo (6.6).

Phần mẫu thử phải được chuyển hết sang bầu thấp hơn (bầu nhỏ) của bình chiết chất béo.

9.2 Phép thử trắng

9.2.1 Phép thử trắng đối với phương pháp

Tiến hành phép thử trắng đồng thời với phép xác định, sử dụng cùng một quy trình và cùng loại thuốc thử, nhưng thay phần mẫu thử đã pha loãng trong 9.4.1 bằng 10 ml nước (xem A.2).

Khi sử dụng một mẫu thử trắng cho một dãy các mẫu thử mà các mẫu riêng lẻ này không có cùng điều kiện như nhau thì phải đảm bảo rằng quy trình để thu được giá trị mẫu trắng được dùng trong phần tính kết quả phải chính xác với quy trình đối với từng mẫu thử riêng lẻ.

Nếu giá trị thu được trong phép thử trắng này vượt quá 1,0 mg thì kiểm tra thuốc thử, nếu trước đó chưa được thực hiện (9.2.2). Các hiệu chính lớn hơn 2,5 mg cần được nêu trong báo cáo thử nghiệm.

9.2.2 Phép thử trắng đối với thuốc thử

Để kiểm tra chất lượng của thuốc thử, tiến hành phép thử trắng như quy định trong 9.2.1. Sử dụng thêm một bình thu nhận chất béo rỗng, được chuẩn bị theo 9.3 với mục đích kiểm soát khối lượng. Các thuốc thử phải không để lại lượng cặn lớn hơn 1,0 mg (xem A.1).

Nếu lượng cặn thu được trong phép thử trắng thuốc thử hoàn chỉnh lớn hơn 1,0 mg thì xác định lượng cặn của các dung môi riêng rẽ bằng cách chưng cất lần lượt 100 ml dietyl ete (5.4) và dầu nhẹ (5.5).

Sử dụng một bình thu nhận chất béo rỗng, được chuẩn bị với mục đích kiểm soát khối lượng như mô tả ở trên, để thu được khối lượng thực của cặn mà không vượt quá 1,0 mg.

Rất hiếm khi các dung môi có thể chứa chất bay hơi mà bị giữ lại nhiều trong chất béo. Nếu có các dấu hiệu cho thấy sự có mặt của các chất như thế thì tiến hành các phép thử trắng trên tất cả các thuốc thử và đối với từng dung môi, sử dụng một bình thu nhận chất béo với khoảng 1 g butterfat khan. Nếu cần, chưng cất lại các dung môi với 1 g butterfat khan trên 100 ml dung môi. Chỉ sử dụng dung môi này ngay sau khi chưng cất lại.

Thay các thuốc thử và các dung môi không đạt yêu cầu, hoặc chưng cất lại các dung môi.

9.3 Chuẩn bị bình thu nhận chất béo

Sấy khô bình thu nhận chất béo (6.9) cùng vài hạt trợ sôi (6.10) trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C trong vòng 1 h.

CHÚ THÍCH 1: Chất trợ sôi là để giúp cho sôi nhẹ trong suốt quá trình loại bỏ các dung môi, đặc biệt trong trường hợp các bình thu nhận chất béo bằng thuỷ tinh; trong trường hợp đĩa kim loại thì tuỳ chọn.

Bảo vệ bình thu nhận chất béo tránh bụi và để bình nguội đến nhiệt độ phòng cân (bình thu nhận chất béo bằng thuỷ tinh để ít nhất 1 h, đĩa kim loại ít nhất 30 min).

Để tránh chưa đủ nguội hoặc thời gian làm nguội bị kéo dài, không nên đặt bình thu nhận chất béo trong tủ hút ẩm.

Dùng kẹp (6.13) đặt bình thu nhận chất béo lên bàn cân. Cân bình chính xác đến 1,0 mg.

CHÚ THÍCH 2: Để tránh làm thay đổi nhiệt độ, dùng kẹp đặt bình lên bàn cân.

9.4 Xác định

9.4.1 Tiến hành xác định ngay.

Nếu cần, cho nước đã được làm ấm trước ở nhiệt độ 65 °C ± 5 °C vào phần mẫu thử đựng trong bình chiết chất béo (9.1) để có được tổng thể tích từ 10 ml đến 11 ml. Dùng nước để tráng phần mẫu thử ở đáy bình. Lắc nhẹ với nước hơi ấm trên nồi cách thuỷ (6.5), ở nhiệt độ từ 40 °C đến 60 °C cho đến khi phần mẫu thử tan hết.

9.4.2 Cho 2 ml dung dịch amoniac (5.1) hoặc một thể tích tương đương của dung dịch amoniac đậm đặc hơn (xem chú thích trong 5.1) vào phần mẫu thử đã đồng nhất trong bình chiết chất béo (9.4.1). Trộn kỹ với phần mẫu thử trong bầu nhỏ của bình chiết chất béo.

9.4.3 Làm nóng bình chiết chất béo ở nhiệt độ 65 °C ± 5 °C trên nồi cách thuỷ (6.5) từ 15 min đến 20 min, thỉnh thoảng lắc bình (đối với sản phẩm dạng lỏng thì tuỳ chọn). Làm nguội bình dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

9.4.4 Thêm 10 ml etanol (5.2). Trộn kỹ một cách nhẹ nhàng, bằng cách cho lượng chứa trong bình thu nhận chất béo chạy qua chạy lại giữa bầu lớn và bầu nhỏ. Tránh để chất lỏng chạm đến sát cổ bình. Nếu cần, thêm 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3). Làm nguội bình dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

9.4.5 Thêm 25 ml dietyl ete (5.4). Đậy bình chiết bằng nút bần đã bão hoà nước hoặc đậy bằng nút làm bằng chất liệu khác (xem 6.6) đã được làm ướt bằng nước. Lắc mạnh bình 1 min nhưng không lắc quá mức để tránh tạo nhũ.

Trong khi lắc, giữ bình chiết chất béo ở tư thế nằm ngang và bầu nhỏ hướng lên trên, cho chất lỏng trong bầu lớn chảy sang bầu nhỏ một cách định kỳ. Nếu cần, làm mát bình dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng. Mở nút một cách cẩn thận, tráng nút và cổ bình bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Sử dụng chai rửa (6.8) sao cho nước tráng chảy vào bình chiết.

9.4.6 Thêm 25 ml dầu nhẹ (5.5). Đậy nắp bình chiết chất béo bằng nút bần hoặc nút khác đã làm ướt lại bằng nước (ngâm trong nước). Trộn nhẹ nhàng một lần nữa khoảng 30 s theo 9.4.4. Tiến hành lắc bình theo 9.4.5.

9.4.7 Li tâm bình chiết chất béo đã đậy nút từ 1 min đến 5 min ở gia tốc 80*g* đến 90*g*. Nếu không có sẵn máy li tâm (6.2) thì đặt bình đã đậy kín cố định trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min cho đến khi thấy rõ lớp nổi trên bề mặt và phân biệt rõ với lớp chất lỏng. Nếu cần, làm mát bình dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

9.4.8 Cẩn thận tháo bỏ nút, tráng nút và tráng phía trong cổ bình chiết chất béo bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Sử dụng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào bình chiết. Nếu mặt lớp phân cách thấp hơn chỗ thắt cổ bình thì nâng lớp phân cách này lên hơi cao bằng cách thêm nước nhẹ nhàng dọc theo thành bình (xem Hình 1) để gạn dung môi được dễ dàng.

CHÚ THÍCH: Hình 1 và Hình 2 là các ví dụ về một trong ba loại bình chiết chất béo được quy định trong ISO 3889 đã được chọn, nhưng điều này không có nghĩa là nó được ưu tiên hơn loại khác.

9.4.9 Giữ bình chiết chất béo tại bầu nhỏ, cẩn thận gạn được càng nhiều càng tốt lớp nổi phía trên bề mặt vào bình thu nhận chất béo đã được chuẩn bị (xem 9.3) có chứa một ít chất trợ sôi (6.10) trong trường hợp bình đun sôi hoặc bình nón (còn đối với đĩa kim loại thì tuỳ ý). Khi gạn tránh để bất kỳ một ít chất lỏng nào vào bình (xem Hình 2).

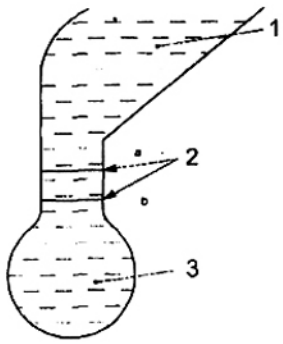
9.4.10 Tráng phía ngoài cổ bình chiết chất béo bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Thu lấy nước tráng vào bình thu nhận chất béo. Cẩn thận không để dung môi hỗn hợp tràn ra thành ngoài của bình

chiết chất béo. Nếu cần, có thể loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình thu nhận chất béo bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như quy định trong 9.4.14.

9.4.11 Thêm 5 ml etanol (5.2) vào lượng chất chứa trong bình chiết chất béo. Dùng etanol để tráng thành trong cổ bình và trộn như quy định trong 9.4.4.

9.4.12 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như trong 9.4.5 đến hết 9.4.9. Thay cho 25 ml chỉ dùng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5). Sử dụng dietyl ete để tráng thành trong của cổ bình chiết chất béo.

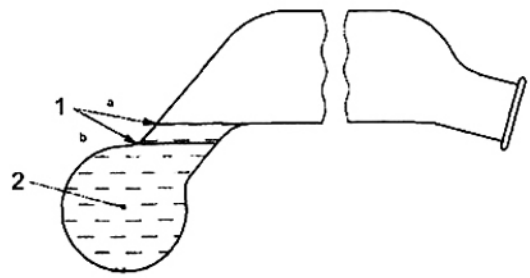
Nếu cần, nâng cao mặt lớp phân cách đến giữa cổ bình bằng cách nhẹ nhàng cho thêm nước theo thành bình (xem Hình 1) để có thể gạn hết dung môi càng nhiều càng tốt (xem Hình 2).



CHÚ DẪN

1 Dung môi
2 Lớp phân cách
3 Lớp chất lỏng
[a] Tại lần chiết thứ hai và thứ ba
[b] Tại lần chiết thứ nhất

Hình 1 – Trước khi gạn



1 Lớp phân cách
2 Lớp chất lỏng
[a] Tại lần chiết thứ hai và thứ ba
[b] Tại lần chiết thứ nhất

Hình 2 – Sau khi gạn

9.4.13 Thực hiện chiết lần ba mà không cho thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác như trong 9.4.5 đến hết 9.4.9. Chỉ dùng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5). Sử dụng dietyl ete để tráng thành trong của cổ bình chiết chất béo.

Nếu cần, nâng cao mặt lớp phân cách đến giữa cổ bình bằng cách nhẹ nhàng cho thêm nước theo thành bình (xem Hình 1) để có thể gạn hết dung môi càng nhiều càng tốt (xem Hình 2).

CHÚ THÍCH Việc chiết lần ba có thể bỏ qua đối với các mẫu có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 5 % khối lượng (chất khô).

9.4.14 Loại bỏ các dung môi (kể cả etanol) càng hết càng tốt khỏi bình thu nhận chất béo bằng cách chưng cất nếu sử dụng bình đun sôi hoặc bình nón, hoặc bằng cách cho bay hơi nếu sử dụng cốc cỏ mỏ hoặc đĩa (xem 6.3). Tráng thành trong của cổ bình nón bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) trước khi bắt đầu chưng cất.

9.4.15 Đun nóng bình thu nhận chất béo trong tủ sấy (6.4) được duy trì ở nhiệt độ 102 °C trong 1 h, với bình đun sôi hoặc bình nón được đặt nghiêng để hơi dung môi thoát ra được. Lấy bình thu nhận chất béo ra khỏi tủ và kiểm tra ngay xem chất béo đã trong hay chưa. Nếu chất béo không trong, chứng tỏ trong chất béo có tạp chất và phải lặp lại toàn bộ quy trình. Nếu chất béo đã trong, bảo vệ bình thu nhận chất béo khỏi bụi và để nguội bình (tốt nhất là không để trong bình hút ẩm) đến nhiệt độ phòng cân (đối với bình thu nhận chất béo bằng thuỷ tinh tối thiểu 1 h, đĩa kim loại tối thiểu 30 min).

Không lau bình thu nhận chất béo ngay trước lúc cân. Dùng kẹp (6.13) đặt bình thu nhận chất béo lên cân. Cân bình thu nhận chất béo chính xác đến 1,0 mg.

9.4.16 Tiếp tục đun nóng tiếp bình thu nhận chất béo trong 30 min trong tủ sấy (6.4) được duy trì ở nhiệt độ 102 °C, với bình đun sôi hoặc bình nón được đặt nghiêng để hơi dung môi thoát ra được. Để nguội và cân lại theo 9.4.15. Nếu cần, lặp lại các quy trình đun nóng và cân cho đến khi chênh lệch khối lượng của bình thu nhận chất béo giữa hai lần cân liên tiếp nhỏ hơn hoặc bằng 1,0 mg. Ghi khối lượng tối thiểu là khối lượng của bình thu nhận chất béo và của chất chiết được.

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Tính kết quả

Tính hàm lượng chất béo, w_f của mẫu bằng phần trăm khối lượng, theo công thức (1):

$$w_f = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100 \qquad (1)$$

Trong đó:

m_0 là khối lượng của phần mẫu thử (9.1), tính bằng gam (g);

m_1 là khối lượng của bình thu nhận chất béo và chất chiết, xác định được trong 9.4.16, tính bằng gam (g);

m_2 là khối lượng của bình thu nhận chất béo đã chuẩn bị (9.3), tính bằng gam (g);

m_3 là khối lượng của bình thu nhận chất béo sử dụng trong phép thử trắng (9.2) và chất chiết xác định được trong 9.4.16, tính bằng gam (g);

m_4 là khối lượng của bình thu nhận chất béo (9.3) được sử dụng trong phép thử trắng (9.2), tính bằng gam (g).

10.2 Biểu thị kết quả

Làm tròn kết quả đến hai chữ số thập phân.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm theo ISO 5725:1986[1)] (xem Tài liệu tham khảo [2]) về độ chụm của phương pháp nêu trong Tài liệu tham khảo [4].

Các giá trị về giới hạn độ lặp lại và độ tái lập được biểu thị ở mức xác suất 95 % và có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và 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 một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người phân tích, sử dụng cùng một thiết bị, thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn phần khối lượng của chất béo sau đây:

- 0,05 % đối với các sản phẩm dạng lỏng;
- 0,1 % đối với các sản phẩm có hàm lượng chất béo nhỏ hơn hoặc bằng 5 % khối lượng;
- 0,2 % đối với sản phẩm có hàm lượng chất béo lớn hơn 5 % khối lượng.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử độc lập, 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 các người phân tích khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn phần khối lượng của chất béo sau đây:

- 0,1 % đối với các sản phẩm dạng lỏng;
- 0,2 % đối với các sản phẩm có hàm lượng chất béo nhỏ hơn hoặc bằng 5 % khối lượng;
- 0,4 % đối với sản phẩm có hàm lượng chất béo lớn hơn 5 % khối lượng.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;

[1)] ISO 5725:1986, *Precision of test methods - Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory test* dùng để thu được dữ liệu về độ chụm. Tiêu chuẩn này đã hủy, được thay bằng bộ tiêu chuẩn ISO 5725 (gồm 6 phần) và đã được chấp nhận thành bộ TCVN 6910 (ISO 5725).

- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi thao tác chi tiết không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được coi là tuỳ chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- việc điều chỉnh, nếu giá trị lớn hơn 2,5 mg thu được trong phép thử trắng đối với phương pháp;
- kết quả thử nghiệm thu được hoặc nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Các lưu ý về cách tiến hành

A.1 Phép thử trắng để kiểm tra thuốc thử (xem 9.2.2)

Trong phép thử trắng này, bình thu nhận chất béo dùng cho mục đích kiểm soát khối lượng được dùng sao cho các thay đổi về điều kiện môi trường của phòng cân hoặc ảnh hưởng nhiệt độ của bình thu nhận chất béo không làm ảnh hưởng đến việc xem xét sự có mặt hay không có mặt của chất không bay hơi có trong phần chiết của thuốc thử. Bình thu nhận chất béo này có thể được dùng làm bình đối trọng trong trường hợp cân có hai đĩa cân. Mặt khác, chênh lệch khối lượng biểu kiến (m_3–m_4 trong công thức trong 10.1) của bình thu nhận chất béo dùng cho mục đích kiểm soát cần được xem xét khi kiểm tra khối lượng của bình thu nhận chất béo dùng trong phép thử trắng. Do đó, sự thay đổi khối lượng biểu kiến của bình thu nhận chất béo, được điều chỉnh theo sự thay đổi khối lượng biểu kiến của bình thu nhận chất béo dùng cho mục đích kiểm soát, khối lượng không được lớn hơn 1,0 mg.

Rất hiếm khi dung môi có chứa chất bay hơi bị giữ lại nhiều trong chất béo. Nếu thấy sự có mặt của các chất như thế, cần tiến hành phép thử trắng đối với tất cả các thuốc thử và từng dung môi thì sử dụng bình thu nhận chất béo với khoảng 1 g butterfat khan. Nếu cần, chưng cất lại các dung môi với sự có mặt của 1 g butterfat khan trong 100 ml dung môi. Chỉ dùng các dung môi này trong khoảng thời gian ngắn sau khi chưng cất lại.

A.2 Tiến hành phép thử trắng đồng thời với phép xác định (xem 9.2.1)

Khối lượng biểu kiến của các chất chiết thu được từ phần mẫu thử ($m_1 - m_2$) cần phải được hiệu chỉnh nếu như giá trị thu được trong phép thử trắng được thực hiện đồng thời với phép xác định, cho thấy có mặt của bất kỳ chất không bay hơi nào từ các thuốc thử cũng như khi có bất kỳ sự thay đổi nào về điều kiện môi trường của phòng cân và một vài sai khác về nhiệt độ giữa bình thu nhận chất béo và phòng cân của hai lần cân (9.4.16 và 9.3).

Trong các điều kiện thích hợp (giá trị thấp trong phép thử trắng đối với thuốc thử, nhiệt độ cân bằng của phòng cân, thời gian để cho bình thu nhận chất béo đủ nguội), giá trị này thường nhỏ hơn 1,0 mg và sau này có thể được bỏ qua trong phần tính kết quả trong trường hợp xác định thông thường. Cũng thường gặp giá trị lớn hơn một chút lên đến 2,5 mg (dương và âm). Sau khi hiệu chỉnh các giá trị này thì kết quả sẽ đúng. Khi phải hiệu chỉnh giá trị lớn hơn 2,5 mg thì phải được đề cập trong Báo cáo thử nghiệm (Điều 12).

Nếu giá trị thu được trong phép thử trắng thường xuyên vượt quá 1,0 mg thì cần kiểm tra lại thuốc thử nếu ngay trước đó chưa kiểm tra. Thuốc thử có lẫn tạp chất hoặc có vết thì cần phải thay thế hoặc tinh sạch (xem 9.2.2 và A.1).

A.3 Phép thử đối với peroxit

Để thử peroxit, cho 1 ml dung dịch kali iodua 100 g/l mới chuẩn bị vào 10 ml dietyl ete (5.4) đựng trong ống đong nhỏ bằng thuỷ tinh có nắp đậy, trước đó đã được tráng bằng ete. Lắc ống đong và sau đó để yên trong 1 min. Không được có màu vàng trong lớp dietyl ete.

Có thể sử dụng các phương pháp thử thích hợp khác để kiểm tra peroxit.

Để đảm bảo rằng dietyl ete không còn chứa peroxit, xử lý dietyl ete ít nhất là ba ngày trước khi sử dụng như sau:

Cắt lá kẽm thành những dải để chúng ít nhất chạm được đến nửa chai đựng dietyl ete, dùng khoảng 8 000 mm^2 lá kẽm cho 1 lít dietyl ete.

Trước khi sử dụng, nhúng toàn bộ các dải lá kẽm này 1 min trong dung dịch chứa 10 g đồng (II) sulfat ngậm 5 phân tử nước ($CuSO_4.5H_2O$) và 2 ml axit sulfuric đậm đặc (98 % khối lượng) trên một lít. Rửa kỹ các dải này nhẹ nhàng bằng nước, rồi đặt các dải đã mạ đồng còn ướt này vào trong chai đựng dietyl ete và để chúng trong chai.

Có thể dùng các phương pháp khác với điều kiện là không làm ảnh hưởng đến kết quả xác định.

A.4 Dietyl ete chứa chất chống oxi hoá

Ở một số nơi các loại dietyl ete có bán sẵn, chứa khoảng 1 mg chất chống oxi hoá trên kilogam, đặc biệt dùng để xác định chất béo. Hàm lượng này không dùng cho mục đích đối chứng.

Cũng có loại dietyl ete bán sẵn có chứa hàm lượng chất chống oxi hoá cao hơn, ví dụ như lên đến 7 mg/kg. Những loại ete này chỉ nên sử dụng đối với những phép xác định thông thường và phải tiến hành phép thử trắng đồng thời với phép xác định, để hiệu chỉnh các sai số hệ thống do lượng dư của chất chống oxi hoá gây ra. Đối với mục đích đối chứng, các loại dietyl ete này luôn phải chưng cất trước khi sử dụng.

A.5 Etanol

Có thể sử dụng etanol đã biến tính không phải metanol với điều kiện là chất làm biến tính này không làm ảnh hưởng đến kết quả của việc xác định.

Phụ lục B

(Tham khảo)

Quy trình thay thế sử dụng ống chiết chất béo có xi phông hoặc có nối với chai rửa

B.1 Yêu cầu chung

Nếu sử dụng ống chiết chất béo có xi phông hoặc có nối với chai rửa thì sử dụng quy trình quy định trong Phụ lục này. Các ống phải có nắp hoặc nút bần chất lượng tốt như quy định đối với các bình trong 6.6 (xem ví dụ trong Hình B.1).

B.2 Cách tiến hành

B.2.1 Chuẩn bị mẫu thử

Xem Điều 8.

B.2.2 Phần mẫu thử

Tiến hành theo quy định trong 9.1 nhưng sử dụng các ống chiết chất béo (xem chú thích trong 6.6 và Hình B.1).

Cần chuyển hết phần mẫu thử sang đáy của ống chiết chất béo.

B.2.3 Phép thử trắng

Xem 9.2 và A.2.

B.2.4 Chuẩn bị bình thu nhận chất béo

Xem 9.3.

B.2.5 Xác định

B.2.5.1 Tiến hành ngay phép xác định.

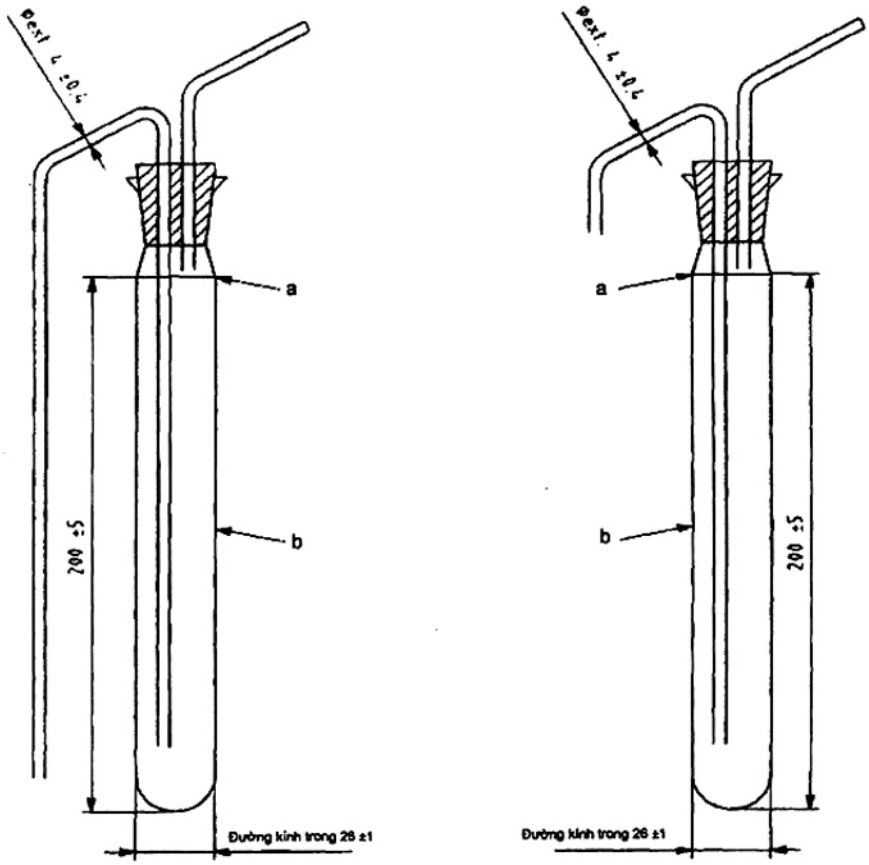
Nếu cần, thêm nước đã được làm ấm trước đến nhiệt độ 65 °C ± 5 °C vào phần mẫu thử trong ống chiết chất béo (B.2.2) để thu được tổng thể tích từ 10 ml đến 11 ml. Dùng nước để tráng phần mẫu thử trên đáy của ống. Lắc nhẹ ống với nước hơi ấm trên nồi cách thuỷ (6.5), ở nhiệt độ từ 40 °C đến 60 °C cho đến khi phần mẫu thử tan hết.

B.2.5.2 Cho 2 ml dung dịch amoniac (5.1) hoặc một thể tích tương ứng của dung dịch amoniac đậm đặc hơn (xem chú thích trong 5.1) vào phần mẫu thử trong ống chiết chất béo (B.2.5.1). Trộn kỹ với phần mẫu thử đã xử lý trước ở đáy ống chiết chất béo.

B.2.5.3 Làm nóng ống chiết chất béo ở nhiệt độ 65 ^{0}C ± 5 ^{0}C trên nồi cách thuỷ (6.5) từ 15 min đến 20 min, thỉnh thoảng lắc ống (đối với sản phẩm dạng lỏng thì tuỳ chọn). Làm nguội dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

B.2.5.4 Thêm 10 ml etanol (5.2). Trộn kỹ một cách nhẹ nhàng hỗn hợp ở đáy ống chiết chất béo. Tốt nhất là thêm 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

Kích thước tính bằng milimet



a) có gắn ống xi phông **b) có gắn chai rửa**

CHÚ DẪN

1 Dung tích 105 ml ± 5 ml khi tháo nút

2 Độ dày thành ống: 1,5 mm ± 0,5 mm

Hình B.1 – Các ví dụ về ống chiết chất béo

B.2.5.5 Cho thêm 25 ml dietyl ete (5.4). Đậy nắp ống chiết chất béo bằng nút bần đã bão hoà nước hoặc bằng nắp làm bằng chất liệu khác đã làm ướt bằng nước (6.6). Lắc mạnh ống, nhưng không quá mạnh để tránh tạo nhũ bằng cách đảo chiều trong khoảng 1 min. Nếu cần, làm mát ống dưới dòng nước chảy. Cẩn thận tháo bỏ nút hoặc nút bần, tráng nút và cổ ống bằng một ít hỗn hợp dung môi (5.6). Sử dụng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào ống.

B.2.5.6 Cho thêm 25 ml dầu nhẹ (5.5). Đậy ống chiết chất béo bằng nút bần hoặc nút khác đã thấm lại nước (bằng cách ngâm vào trong nước). Lắc nhẹ ống 30 s như trong B.2.5.5.

B.2.5.7 Cho li tâm ống chiết chất béo đã đậy nút từ 1 min đến 5 min ở gia tốc 80*g* đến 90*g*. Nếu không có sẵn máy li tâm (6.2) thì đặt ống chiết chất béo trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min cho đến khi thấy rõ lớp nổi trên bề mặt và phân biệt rõ với lớp chất lỏng. Nếu cần, làm mát ống dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

B.2.5.8 Cẩn thận tháo bỏ nút hoặc nắp, tráng nút và cổ của ống chiết chất béo bằng một ít hỗn hợp dung môi (5.6). Sử dụng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào ống.

B.2.5.9 Lắp khớp nối xi phông hoặc khớp nối với chai rửa vào ống chiết chất béo. Đẩy ống nối bên trong cho đến khoảng 4 mm cao hơn mặt phân cách giữa các lớp. Ống nối phía bên trong phải song song với trục của ống chiết chất béo.

Cẩn thận chuyển lớp nổi bên trên ra khỏi ống chiết chất béo vào bình thu nhận chất béo (xem 9.3) có chứa một ít chất trợ sôi (6.10) trong trường hợp đối với bình đun sôi hoặc bình nón (còn đối với đĩa kim loại thì tuỳ chọn). Không được để lớp chất lỏng lẫn vào. Tráng phía ngoài khớp nối bằng một ít hỗn hợp dung môi, thu lấy nước tráng vào bình thu nhận chất béo.

CHÚ THÍCH Lớp nổi phía trên có thể được chuyển ra khỏi ống chiết chất béo, ví dụ như bằng cách dùng bầu cao su được nối với một ống ngắn để tạo áp lực.

B.2.5.10 Tháo khớp nối ra khỏi cổ của ống chiết chất béo. Nâng nhẹ ống nối và tráng phần trong phía dưới của ống nối bằng một ít hỗn hợp dung môi (5.6). Hạ thấp, chèn lại ống nối và chuyển nước rửa vào bình thu nhận chất béo.

Tráng rửa đầu ra của khớp nối bằng một ít hỗn hợp dung môi, cho nước rửa vào bình thu nhận chất béo. Tốt nhất là loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi ra khỏi bình thu nhận bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như trong 9.4.14.

B.2.5.11 Tháo khớp nối ra khỏi cổ của ống chiết. Nâng nhẹ khớp nối và thêm 5 ml etanol vào lượng chứa trong ống chiết chất béo. Dùng etanol để tráng thành trong của khớp nối. Trộn đều như trong B.2.5.4.

B.2.5.12 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như trong B.2.5.5 đến B.2.5.10. Thay 25 ml bằng cách chỉ sử dụng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5). Dùng dietyl ete để tráng thành trong của khớp nối trong suốt quá trình tháo khớp nối ra khỏi ống sau lần chiết lần trước.

B.2.5.13 Thực hiện chiết lần ba mà không thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác như trong B.2.5.5 đến B.2.5.10. Chỉ sử dụng 15 ml dietyl ete và 15 ml dầu nhẹ. Sử dụng dietyl ete để tráng thành trong của khớp nối như trong B.2.5.12.

CHÚ THÍCH: Có thể bỏ qua lần chiết thứ ba đối với các sản phẩm chứa hàm lượng chất béo với khối lượng nhỏ hơn 5 % tính theo chất khô.

B.2.5.14 Tiến hành tiếp theo quy định trong 9.4.14 đến 9.4.16.

Thư mục tài liệu tham khảo

[1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*

[2] ISO 5725:1986, *Précision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for standard tests methods by inter-laboratory tests.*

[3] TCVN 6688-1 (ISO 8262-1), *Sản phẩm sữa và thực phẩm từ sữa – Xác định hàm lượng chất béo bằng phương pháp khối lượng Weibull-Berntrop (phương pháp chuẩn) – Phần 1: Thực phẩm dành cho trẻ nhỏ.*

[4] International Dairy Federation. Interlaboratory Collaborative Studies, Second series, Bull. Int. Dairy *Fed.*, 1988, (235).