

TCVN 9047 : 2012

ISO 7328 : 2008

Xuất bản lần 1

**KEM LẠNH THỰC PHẨM CHỨA SỮA VÀ KEM LẠNH
HỖN HỢP – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT BÉO –
PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

*Milk-based edible ices and ice mixes - Determination of fat content –
Gravimetric method (Reference method)*

Lời nói đầu

TCVN 9047:2012 hoàn toàn tương đương với ISO 7328:2008;

TCVN 9047:2012 do Cục An toàn vệ sinh thực phẩm tổ chức biên soạn,
Bộ Y tế đề nghị, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định,
Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)

Milk-based edible ices and ice mixes –

Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method)

CẢNH BÁO – Việc áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn sức khỏe 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 phần lớn các loại kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp.

Tiêu chuẩn này cũng áp dụng cho kem lạnh hỗn hợp dạng cô đặc và dạng bột.

Tiêu chuẩn này không áp dụng cho một số loại kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp, trong đó có chứa lượng chất nhũ hóa, chất ổn định hoặc chất làm dày, hoặc có chứa lòng đỏ trứng, các loại trái cây hoặc hỗn hợp của chúng làm cho phương pháp Röse-Gottlieb trở nên không thích hợp.

CHÚ THÍCH: Đối với các sản phẩm nêu trên, phương pháp sử dụng nguyên tắc Weibull-Berntrop [xem TCVN 6688-2 (ISO 8262-2) ^[3]] là thích hợp.

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 9047:2012

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 trong kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp (fat content of milk-based edible ices and ice mixes)

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 tính bằng phần trăm khối lượng.

4 Nguyên tắc

Phần mẫu thử trong dung dịch etanol amoniac được chiết bằng dietyl ete và dầu nhẹ. Loại bỏ các dung môi bằng cách chưng cất hoặc cho bay hơi. Xác định khối lượng của các chất chiết được.

CHÚ THÍCH: Nguyên tắc này thường được gọi là nguyên tắc Röse-Gottlieb.

5 Thuốc thử

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

Các thuốc thử không được để lại lượng cặn đáng kể khi thực hiện phép thử theo quy định (xem 9.2.2).

5.1 Dung dịch amoniac, chứa khoảng 25 % khối lượng NH_3 , ($\rho_{20} = 910 \text{ g/l}$).

CHÚ THÍCH Nếu không có sẵn dung dịch amoniac nồng độ như trên thì có thể sử dụng dung dịch có nồng độ biết trước cao hơn (xem 9.4.2).

5.2 Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), hoặc etanol đã được biến tính bằng metanol, có chứa ít nhất 94 % thể tích etanol (xem A.5).

5.3 Dung dịch đỏ Congo

Hoà tan 1 g đỏ Congo ($C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$) vào nước đựng trong bình định mức một vạch dung tích 100 ml (6.14). Pha loãng bằng nước đến vạch.

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

5.4 Dietyl ete ($C_2H_5OC_2H_5$), không chứa các peroxit (xem A.3), có chứa không nhiều hơn 2 mg/kg chất chống oxi hoá và phù hợp với 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 gây nguy hiểm. Cần tuân thủ các quy định về an toàn khi xử lí, sử dụng và thải bỏ thuốc thử này.

5.5 Dầu nhẹ, có dải nhiệt độ sôi từ 30 °C đến 60 °C, hoặc tương đương như pentan ($CH_3[CH_2]_3CH_3$) có điểm sôi 36 °C, phù hợp với các yêu cầu cho 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 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 phép xác định này có sử dụng các dung môi bay hơi dễ cháy nên mọi thiết bị điện được dùng phải tuân theo quy định an toàn 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, có thể cân chính xác đến 1 mg, có thể đọc đến 0,1 mg.

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

Việc sử dụng máy li tâm là tùy chọn, nhưng nên dùng loại thiết bị này (xem 9.4.7).

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

6.4 Tủ sấy, chạy bằng điện, có cửa thông gió mở hoàn toàn, có thể duy trì được nhiệt độ $102\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ trong toàn bộ khoang sấy.

Tủ sấy phải được gắn với nhiệt kế thích hợp.

6.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì được nhiệt độ $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

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

CHÚ THÍCH Cũng có thể dùng ống chiết chất béo, có ống si phông hoặc nối với chai rửa, nhưng quy trình này có khác và được nêu trong Phụ lục B.

Các bình chiết 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 polytetrafloetylen) không bị ảnh hưởng bởi thuốc thử được sử dụng. Nút bần phải được chiết bằng dietyl ete (5.4), được ngâm trong nước ít nhất 15 min ở nhiệt độ 60°C hoặc cao hơn và sau đó để nguội trong nước để nút bần bão hòa nước khi sử dụng.

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

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

Không dùng chai rửa bằng chất dẻo.

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

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

6.10 Hạt trợ sôi, không chứa chất béo, bằng sứ không xốp hoặc silic cacbua (tùy chọn khi dùng đĩa kim loại).

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

6.12 Pipet, có chia độ, dung tích 10 ml, phù hợp với loại A của TCVN 7150 (ISO 835).

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

6.14 Pipet, có một đầu rộng, có khả năng phân phối phần mẫu thử dạng lỏng.

CHÚ THÍCH: Việc sử dụng pipet này là tùy chọn (xem 9.1).

6.15 Máy trộn tốc độ cao, có bình khuấy dung tích 1 lit có nắp đậy kín, hoặc các dụng cụ thích hợp khác để chuẩn bị mẫu thử.

6.16 Bình định mức, một vạch, dung tích 100 ml phù hợp với loại A của TCVN 7153 (ISO 1042).

7 Lấy mẫu

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

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

Bảo quản mẫu phòng thử nghiệm ở nhiệt độ không lớn hơn $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ từ khi lấy mẫu cho đến khi tiến hành thử nghiệm, ngoại trừ mẫu kem lạnh hỗn hợp dạng bột.

8 Chuẩn bị mẫu thử

8.1 Kem lạnh thực phẩm chứa sữa, kem lạnh hỗn hợp và kem lạnh hỗn hợp dạng cô đặc

8.1.1 Không để nhiệt độ vượt quá $12\text{ }^{\circ}\text{C}$ ở bất kì thời điểm nào trong quá trình chuẩn bị các phần kem.

Loại bỏ tất cả lớp phủ bên ngoài không phải là kem ra khỏi mẫu thử.

8.1.2 Nếu có thể, tách riêng các lớp của sản phẩm có nhiều lớp, các lớp này có thể chứa hàm lượng chất béo khác nhau, trong khi mẫu vẫn ở trạng thái đông lạnh. Chuẩn bị các mẫu thử riêng rẽ từ mỗi lớp đã tách theo 8.1.3.

8.1.3 Cắt mẫu thử thành từng miếng. Chọn một vài miếng ngẫu nhiên để có được tổng khối lượng khoảng 100 g, nếu có thể. Cho các miếng này vào máy trộn. Đậy nắp bình trộn và làm mềm mẫu ở nhiệt độ phòng. Đối với các mẫu thử đơn giản thì tiến hành trộn trong 2 min, với các mẫu có chứa các chất dạng hạt (ví dụ: như các loại hạt, các miếng kẹo cứng) thì trộn không quá 7 min để thu được hỗn hợp đồng nhất.

Nếu chất béo bị tách ra hoặc mẫu bị "đánh kem" thì loại bỏ hỗn hợp và lặp lại quy trình chuẩn bị với thời gian trộn ngắn hơn. Chuyển ngay mẫu thử đã trộn vào hộp kín khí thích hợp và tiến hành xác định trong vòng 1 h.

8.2 Kem lạnh hỗn hợp dạng bột

Trộn kĩ bằng cách xoay và đảo chiều hộp chứa mẫu. Nếu cần, chuyển mẫu thử qua một hộp kín khí thích hợp khác, có dung tích đủ để trộn. Nếu các mẫu thử vẫn còn chứa các cục hoặc mảng thì đồng hóa bằng máy trộn thích hợp (6.15).

9 Cách tiến hành

CHÚ THÍCH 1: Nếu cần kiểm tra xem giới hạn lặp lại (11.2) có thỏa mãn hay không thì tiến hành hai phép xác định riêng rẽ theo quy định từ 9.1 đến 9.4.

TCVN 9047:2012

CHÚ THÍCH 2: Quy trình thay thế sử dụng các ống chiết chất béo có gắn si phòng hoặc chai rửa (xem Chú thích trong 6.6) được nêu trong Phụ lục B.

9.1 Phần mẫu thử

Trộn mẫu thử (Điều 8) bằng cách đảo chiều chai đựng nhẹ nhàng ba lần hoặc bốn lần. Cân ngay một trong các phần mẫu thử sau đây, trực tiếp hoặc gián tiếp, chính xác đến 1 mg, cho vào bình chiết chất béo (6.6):

- a) kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp: từ 4,000 g đến 5,000 g;
- b) kem lạnh hỗn hợp dạng cô đặc: từ 2,000 g đến 2,500 g;
- c) kem lạnh hỗn hợp dạng bột: từ 0,900 g đến 1,100 g.

Chuyển càng triệt để càng tốt phần mẫu thử sang bầu thấp (nhỏ) hơn của bình chiết chất béo. Sử dụng pipet (6.14) nếu thích hợp.

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 quy trình và dùng cùng một loại thuốc thử, nhưng thay phần mẫu thử trong 9.4.1 bằng 10 ml nước (xem A.2).

Khi sử dụng một mẫu trắng cho một mẻ mẫu thử mà các mẫu riêng rẽ có thể không có các điều kiện giống nhau hoàn toàn thì cần đảm bảo rằng quy trình cung cấp giá trị thử trắng để dùng trong tính kết quả phù hợp hoàn toàn với quy trình sử dụng cho mẫu thử riêng rẽ.

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

9.2.2 Phép thử trắng đối với thuốc thử

Tiến hành phép thử trắng theo 9.2.1 để kiểm tra chất lượng của thuốc thử. 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 không được để lại lượng cặn lớn hơn 1,0 mg (xem A.1).

Nếu phần cặn thu được trong phép thử trắng đối với thuốc thử lớn hơn 1,0 mg thì xác định lượng cặn của từng 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 theo mô tả ở trên với mục đích kiểm soát khối lượng, để thu được khối lượng thực của cặn, khối lượng này không được lớn hơn 1,0 mg.

Rất hiếm khi các dung môi có thể chứa chất bay hơi 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 đối với tất cả thuốc thử và đối với từng dung môi, sử dụng bình thu nhận chất béo chứa khoảng 1 g butterfat khan. Nếu cần, chưng cất lại các dung môi với sự có mặt 1 g butterfat khan trên 100 ml dung môi. Sử dụng dung môi này ngay sau khi chưng cất lại.

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

9.3 Chuẩn bị bình thu nhận chất béo

Làm khô bình thu nhận chất béo (6.9) có vài hạt trợ sôi (6.10) trong tủ sấy (6.4) duy trì nhiệt độ 102 °C, trong thời gian 1 h.

CHÚ THÍCH 1: Hạt trợ sôi là để giúp cho sôi nhẹ trong quá trình loại bỏ các dung môi, đặc biệt trong trường hợp sử dụng bình thu nhận chất béo bằng thủy tinh; trong trường hợp dùng đĩa kim loại, việc sử dụng hạt trợ sôi là tùy chọn.

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

Không nên đặt bình thu nhận chất béo trong bình hút ẩm để tránh chưa đủ nguội hoặc thời gian làm nguội bị kéo dài.

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

CHÚ THÍCH 2: Việc dùng kẹp để tránh làm thay đổi nhiệt độ.

9.4 Phép xác định

9.4.1 Tiến hành xác định ngay.

Thêm 6 ml, 8 ml hoặc 10 ml nước đã được làm nóng ở nhiệt độ $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ vào phần mẫu thử đựng trong bình chiết chất béo (9.1) để thu được tổng thể tích từ 10 ml đến 11 ml. Dùng nước để rửa phần mẫu thử vào bầu nhỏ của bình chiết. Trộn kỹ mẫu thử trong bầu nhỏ. Làm nguội phần mẫu thử, trừ phần mẫu thử của kem lạnh hỗn hợp dạng bột, đến nhiệt độ phòng dưới dòng nước chảy.

9.4.2 Thêm 2 ml dung dịch amoniac (5.1) hoặc một thể tích tương ứng của dung dịch amoniac đậm đặc hơn (xem Chú thích ở 5.1) vào phần mẫu thử (9.4.1). Trộn kỹ phần mẫu thử đựng trong bầu nhỏ của bình chiết chất béo.

9.4.3 Đun nóng bình chiết chất béo chứa phần mẫu thử của kem lạnh hỗn hợp dạng bột trong nồi cách thủy (6.5) được duy trì ở nhiệt độ 65 °C, trong thời gian từ 15 min đến 20 min, thỉnh thoảng lắc. Làm nguội đến nhiệt độ phòng dưới dòng nước chảy.

9.4.4 Thêm 10 ml etanol (5.2). Trộn kỹ một cách nhẹ nhàng bằng cách cho lượng chứa trong bình chiết chất béo chảy đi chảy lại giữa bầu lớn và bầu nhỏ. Tránh không để cho chất lỏng dâng lên quá gần cổ bình. Nếu cần, thêm hai giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

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

Trong quá trình lắc, giữ bình ở tư thế nằm ngang và bầu nhỏ hướng lên trên, định kì cho chất lỏng trong bầu lớn chảy sang bầu nhỏ. Làm mát bình dưới dòng nước chảy đến gần nhiệt độ phòng, nếu cần. Cẩn thận mở nắp bình, tráng nắp và phía trong cổ bình chiết chất béo bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào bình.

9.4.6 Thêm 25 ml dầu nhẹ (5.5). Đậy bình chiết chất béo bằng nút bần hoặc nắp đậy đã được làm ẩm lại (ngâm trong nước). Lắc nhẹ bình trong 30 s theo 9.4.4. Tiến hành lắc theo 9.4.5.

9.4.7 Li tâm bình chiết chất béo đã đậy kín trong thời gian từ 1 min đến 5 min ở gia tốc quay từ 80g đến 90 g. Nếu không có máy li tâm (6.2) thì để yên bình chiết chất béo đậy kín trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min cho đến khi lớp nổi phía trên trong và tách hẳn khỏi lớp nước. Nếu cần, làm nguội bình chiết chất béo dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

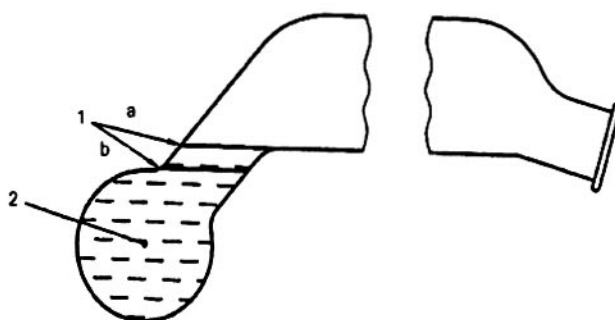
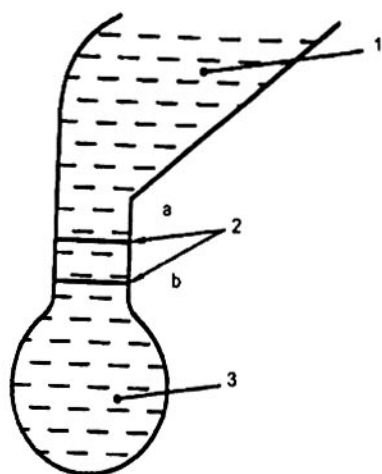
9.4.8 Cẩn thận tháo nắp bình, dùng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) để tráng nắp và phía trong cổ bình chiết chất béo. Dùng chai rửa (6.8) để tráng sao cho nước rửa chảy vào bình. Nếu mặt lớp phân cách thấp hơn chỗ thắt cổ bình thì cần nâng cao mức này lên một chút bằng cách nhẹ nhàng thêm nước theo thành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

CHÚ THÍCH: Trong Hình 1 và Hình 2 mô tả một trong ba loại bình được quy định trong ISO 3889, nhưng điều này không có nghĩa là loại bình này được ưu tiên hơn các loại khác.

9.4.9 Giữ bầu nhỏ của bình chiết chất béo và cẩn thận gạn càng triệt để càng tốt lớp nổi trên bề mặt vào bình thu nhận chất béo đã chuẩn bị (xem 9.3) có chứa vài hạt trợ sôi (6.10) trong trường hợp sử dụng bình nón hoặc bình đun sôi (đối với đĩa kim loại thì tùy chọn). Không gạn bất kì phần nào của lớp nước 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 rửa vào bình thu nhận chất béo. Chú ý không để dung môi hỗn hợp tràn ra bên ngoài bình chiết. Nếu cần, loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình thu nhận chất béo bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi theo 9.4.14.

9.4.11 Thêm 5 ml etanol (5.2) vào bình chiết chất béo. Dùng etanol để tráng bên trong cổ bình và trộn theo 9.4.4.

**CHÚ DẪN**

- 1 Dung môi
 2 Lớp phân cách
 3 Lớp chất lỏng
 a Ở lần chiết thứ hai và lần chiết thứ ba
 b Ở lần chiết thứ nhất

- 1 Lớp phân cách
 2 Lớp chất lỏng
 a Ở lần chiết thứ hai và lần chiết thứ ba
 b Ở lần chiết thứ nhất

Hình 1 – Trước khi gạn**Hình 2 – Sau khi gạn**

9.4.12 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác theo quy định trong 9.4.5 đến hết 9.4.9. Chỉ dùng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5) thay vì dùng 25 ml. Dùng dietyl ete để tráng thành trong của cổ bình chiết chất béo.

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

9.4.13 Thực hiện chiết lần ba, không thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác theo quy định trong 9.4.5 đến 9.4.9. Chỉ sử dụng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5). Dùng dietyl ete để tráng bên trong cổ bình chiết chất béo.

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

CHÚ THÍCH: Đối với các sản phẩm hoặc sản phẩm được hoàn nguyên có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 0,5 % khối lượng, có thể bỏ qua lần chiết thứ ba.

9.4.14 Loại bỏ các dung môi (kể cả etanol) ra khỏi bình thu nhận chất béo càng triệt để càng tốt bằng cách chưng cất nếu sử dụng bình đun sôi hoặc bình nón, hoặc bằng cách làm bay hơi nếu sử dụng

cốc có mở hoặc đĩa (xem 6.3). Tráng bên trong của cổ bình đun sôi hoặc bình nón bằng một lít 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 nhiệt độ 102 °C trong thời gian 1 h, đối với bình nón hoặc bình đun sôi thì đặt chúng nằm nghiêng để hơi dung môi thoát ra được. Lấy bình thu nhận chất béo ra khỏi tủ sấy và kiểm tra ngay xem chất béo đã trong hay chưa. Nếu chất béo không trong thì có thể chứa tạp chất béo và phải lặp lại toàn bộ quy trình. Nếu chất béo trong thì bảo vệ bình thu nhận chất béo khỏi bụi và để nguội bình (không để trong bình hút ẩm) đến nhiệt độ phòng cân (đối với bình thủy tinh thì ít nhất là 1 h còn đối với đĩa kim loại thì ít nhất là 30 min).

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

9.4.16 Đun nóng bình thu nhận chất béo thêm 30 min trong tủ sấy (6.4) được duy trì nhiệt độ 102 °C, đối với bình nón hoặc bình đun sôi thì đặt chúng nằm 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 bằng hoặc nhỏ hơn 1,0 mg. Ghi lại giá trị nhỏ nhất, giá trị này được coi là khối lượng bình thu nhận chất béo và chất chiết được.

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Tính kết quả

Tính hàm lượng chất béo của mẫu thử, w_f , được biểu thị bằng phần trăm khối lượng, theo Công thức (1):

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

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 được, 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) 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 phù hợp với ISO 5725:1986¹⁾ (xem Tài liệu tham khảo [2]) về độ chụm của phương pháp được đề cập trong Tài liệu tham khảo [3].

Các giá trị về độ lặp lại và độ tái lập được biểu thị theo mức xác suất 95 % và có thể không thể áp dụng cho các dải nồng độ và các chất nền khác với các dải nồng độ và các chất nền đã nêu.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên vật liệu thử giống hệt nhau, do cùng một người phân tích, sử dụng cùng một thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn phần khối lượng chất béo sau đây:

- a) 0,03 % đối với kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp;
- b) 0,05 % đối với kem lạnh hỗn hợp dạng cô đặc;
- c) 0,20 % đối với kem lạnh hỗn hợp dạng bột.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ độc lập, thu được khi tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, do những người phân tích khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau trong các phòng thử nghiệm khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn phần khối lượng chất béo sau đây:

- a) 0,05 % đối với kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp;
- b) 0,10 % đối với kem lạnh hỗn hợp dạng cô đặc;
- c) 0,30 %, đối với kem lạnh hỗn hợp dạng bột.

¹⁾ ISO 5725:1986 (hiện nay đã bị huỷ bỏ) được sử dụng để thu được các số liệu về độ chụm.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- 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, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các thao tác chi tiết không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- e) việc hiệu chỉnh, nếu giá trị thu được trong phép thử trắng đối với phương pháp lớn hơn 2,5 mg;
- f) kết quả thử nghiệm thu được hoặc nếu kiểm độ lặp lại thì ghi kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Một số chú 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 để kiểm tra khối lượng được sử dụng để đảm bảo các thay đổi trong 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 này có thể được dùng như 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 ở 10.1) của bình kiểm chứng phải 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 kiểm tra, không được tăng quá 1,0 mg.

Rất hiếm khi các dung môi có chứa chất dễ 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 thuốc thử và đối với 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 trong 100 ml dung môi. Chỉ dùng các dung môi này trong khoảng thời gian ngắn sau khi chưng cất lại.

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

Giá trị thu được trong phép thử mẫu trắng tiến hành đồng thời với phép xác định, cho khối lượng biểu kiến của các chất chiết được từ phần mẫu thử ($m_1 - m_2$) được hiệu chỉnh theo sự có mặt của các chất không bay hơi chiết được từ thuốc thử và cũng như bất kỳ sự thay đổi nào về điều kiện môi trường của phòng cân và chênh lệch nhiệt độ giữa bình thu nhận chất béo và phòng cân trong hai lần cân (9.4.15 và 9.3).

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

Nếu giá trị thu được trong phép thử trắng thường lớn hơn 1,0 mg thì cần kiểm tra thuốc thử nếu trước đó chưa kiểm tra. Thuốc thử có lẫn tạp chất hoặc có vết thì cần phải thay mới hoặc làm sạch lại (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 có nắp thủy tinh đã được tráng bằng ete. Lắc ống đong rồi để yên 1 min. Lớp dietyl ete không được có màu vàng.

Có thể sử dụng các phương pháp thử nghiệm thích hợp khác đối với peroxit.

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

Cắt lá kẽm thành những dải để ít nhất là chúng chạm được đến nửa chai đựng ete, dùng khoảng 8000 mm² 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 năm phân tử nước ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) và 2 ml axit sulfuric đậm đặc (98 % khối lượng) trên lít. Rửa kỹ các dải lá kẽm nhẹ nhàng bằng nước, rồi đặt các dải đã được mạ đồng còn ẩm này vào trong chai đựng dietyl ete và để chúng vào 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 có chứa chất chống oxi hoá

Dietyl ete có chứa khoảng 1 mg chất chống oxi hoá trên kilogam có bán sẵn ở một số quốc gia, đặc biệt dùng để xác định chất béo. Hàm lượng này không dùng để đối chứng.

Tại một số quốc gia có bán sẵn dietyl ete chứa hàm lượng chất chống oxi hoá cao hơn, ví dụ: đến 7 mg/kg. Những loại như thế chỉ nên sử dụng trong phép xác định thông thường và phải tiến hành phép thử tráng đồng thời với phép xác định, để hiệu chỉnh những sai số hệ thống do dư lượng của chất chống oxi hoá gây ra. Phải chưng cất loại dietyl ete này trước khi dùng để đối chứng.

A.5 Etanol

Có thể sử dụng etanol đã biến tính không phải bằng cách thêm metanol, với điều kiện là etanol đó không làm ảnh hưởng đến kết quả xác định.

Phụ lục B

(Tham khảo)

Quy trình thay thế dùng ống chiết chất béo có si phông hoặc có nổi với chai rửa

B.1 Yêu cầu chung

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

B.2 Cách tiến hành

B.2.1 Chuẩn bị mẫu thử

Xem Điều 8.

B.2.2 Phần mẫu thử

Tiến hành theo 9.1 nhưng dùng các ống chiết chất béo (xem Chú thích trong 6.6 và Hình B.1).

Phần mẫu thử này phải chuyển được vào đáy của ống chiết chất béo càng triệt để càng tốt.

B.2.3 Phép thử trắng

Xem 9.2 và A.2.

B.2.4 Chuẩn bị bình thu nhận chất béo

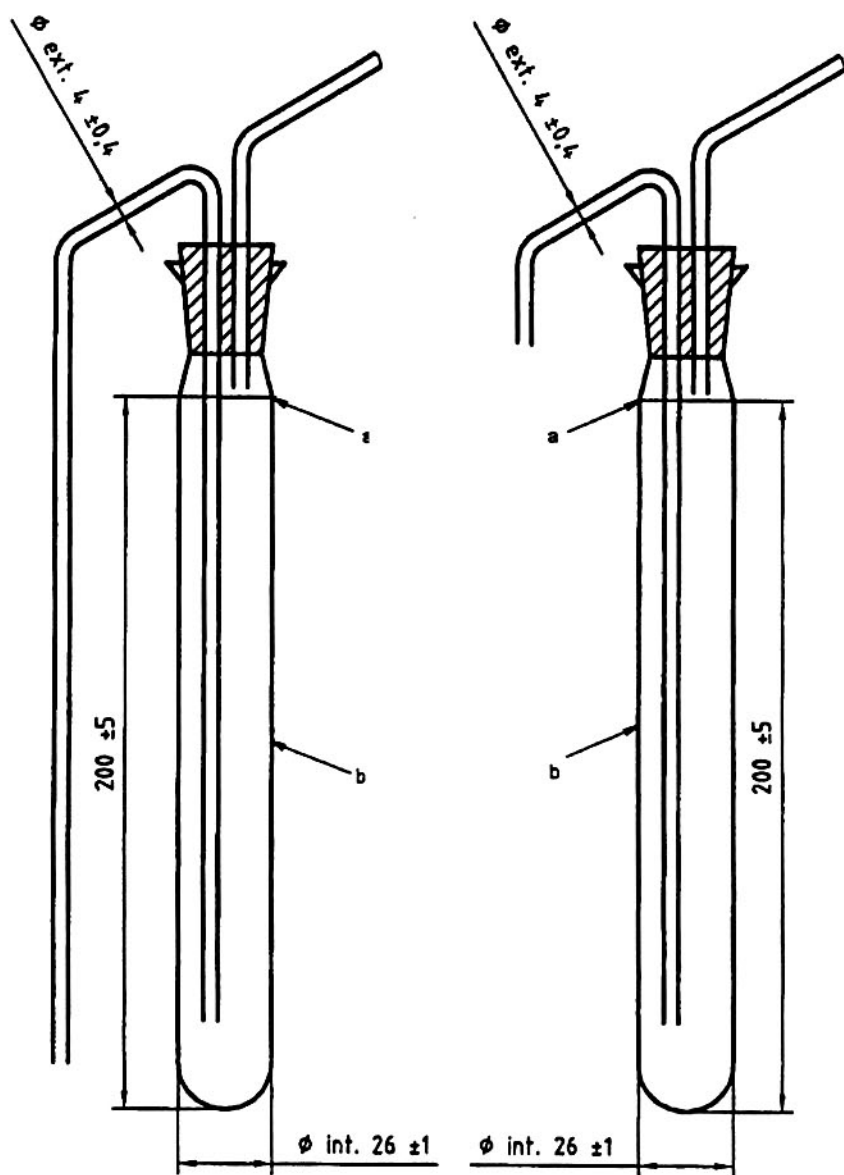
Xem 9.3.

B.2.5 Phép xác định

B.2.5.1 Tiến hành xác định ngay.

Thêm 6 ml, 8 ml hoặc 10 ml nước đã được làm nóng ở nhiệt độ 65 °C vào phần mẫu thử đựng trong ống chiết chất béo (B.2.2) để thu được tổng thể tích từ 10 ml đến 11 ml. Dùng nước để rửa phần mẫu thử vào bầu nhỏ của ống chiết chất béo. Trộn kỹ phần mẫu thử trong bầu nhỏ. Làm nguội phần mẫu thử, trừ phần mẫu thử của kem lạnh hỗn hợp dạng bột, đến nhiệt độ phòng dưới dòng nước chảy.

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



a) có gắn ống si phông

b) có gắn bình rửa

CHÚ DẪN

- * Dung tích khí tháo khớp nối $105 \text{ ml} \pm 5 \text{ ml}$.
- ° Độ dày của thành $1,5 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$.

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

B.2.5.3 Đun nóng ống chiết chất béo chứa phần mẫu thử của kem lạnh hỗn hợp dạng bột trong nồi cách thủy (6.5) được duy trì ở nhiệt độ $65 \text{ }^\circ\text{C}$ trong thời gian từ 15 min đến 20 min, thỉnh thoảng lắc. Làm nguội ống đến nhiệt độ phòng dưới dòng nước chảy.

B.2.5.4 Thêm 10 ml etanol (5.2). Trộn kỹ một cách nhẹ nhàng trên đáy của ống chiết chất béo. Nếu cần, thêm 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

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

B.2.5.6 Thêm 25 ml dầu nhẹ (5.5), đậy ống chiết chất béo bằng nút bần hoặc nắp đậy đã được làm ẩm lại (ngâm trong nước). Lắc nhẹ ống trong 30 s theo B.2.5.5.

B.2.5.7 Li tâm ống chiết chất béo đã đậy kín trong máy li tâm (6.2) trong thời gian từ 1 min đến 5 min ở gia tốc quay từ 80g đến 90g. Nếu không có máy li tâm thì để yên ống trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min cho đến khi thấy có lớp nổi lên bề mặt rõ rệt và phân biệt rõ với lớp dịch lỏng. Nếu cần, làm nguội ống dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

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

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

Cẩn thận gạt lớp nổi trên bề mặt của ống chiết chất béo vào bình thu nhận chất béo (xem 9.3) có chứa vài hạt trợ sôi (6.10) trong trường hợp đối với bình đun sôi hoặc bình nún (đối với đĩa kim loại thì tùy chọn). Tránh không để lớp dịch lỏng lẫn vào. Tráng phía ngoài khớp nối bằng một ít dung môi hỗn hợp, thu lấy nước rửa 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 thân ngắn để tạo áp lực.

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

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

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

B.2.5.12 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác theo quy định trong B.2.5.5 đến B.2.5.11. Dùng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5) thay vì 25 ml. Dùng dietyl ete để tráng thành trong của khớp nối trong quá trình tháo khớp nối ra khỏi ống chiết chất béo sau lần chiết đầu.

B.2.5.13 Thực hiện chiết lần ba, không thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác theo quy định trong B.2.5.5 đến B.2.5.11. Tương tự, chỉ dùng 15 ml dietyl ete và 15 ml dầu nhẹ. Dùng dietyl ete để tráng thành trong của khớp nối theo B.2.5.11.

CHÚ THÍCH: Đối với các sản phẩm hoặc sản phẩm được hoàn nguyên có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 0,5 % khối lượng, có thể bỏ qua lần chiết thứ ba.

B.2.5.14 Tiến hành 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, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests.*
 - [3] TCVN 6688-2 (ISO 8262-2), *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 2: Kem lạnh và kem hộp hợp.*
 - [4] International Dairy Federation. Interlaboratory Collaborative Studies, Second series. *Bull.Int. Dairy Fed.* 1988 (235).
-