

Lời nói đầu

TCVN 3703 : 2009 thay thế TCVN 3703 : 1990;

TCVN 3703 : 2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F11 Thủy sản biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thủy sản và sản phẩm thủy sản – Xác định hàm lượng chất béo

Fish and fishery products – Determination of fat content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định hai phương pháp xác định hàm lượng chất béo trong nguyên liệu, bán thành phẩm và sản phẩm thủy sản.

- Phương pháp I: Phương pháp thủy phân bằng axit;
- Phương pháp II: Phương pháp chưng cất trong dung môi hữu cơ.

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 5276 : 1990, *Thủy sản – Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu*.

3 Phương pháp I: Phương pháp thủy phân bằng axit

3.1 Nguyên tắc

Mẫu thử được thủy phân trong axit clohydric (3.2.2), chất béo có trong mẫu được chiết bằng các dung môi hữu cơ, sau đó sấy khô và cân.

3.2 Thuốc thử

Chỉ được sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

3.2.1 Dung dịch natri clorua (NaCl), bão hoà.

3.2.2 Axit clohydric (HCl).

3.2.3 Cồn etylic.

3.2.4 Ete etylic (C₂H₅OC₂H₅), tinh khiết phân tích.

3.2.5 Ete dầu mỏ, có điểm sôi dưới 60 °C.

3.3 Thiết bị, dụng cụ

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

3.3.1 Máy xay phòng thử nghiệm hoặc máy trộn tốc độ cao.

3.3.2 Sàng, số 8 đến số 12.

3.3.3 Cốc có mỏ, dung tích 50 ml và 125 ml, có nắp đậy bằng mặt kính đồng hồ.

3.3.4 Nồi hơi.

3.3.5 Bình chiết chất béo kiểu Mojonnier, có nút bần hoặc nút bằng cao su đậy kín.

3.3.6 Dụng cụ làm ráo nước.

Đĩa hoặc khay bằng kim loại, đáy phẳng, mỗi cạnh dài 5 cm, diện tích bề mặt đĩa tính theo lượng thủy sản đưa vào để làm ráo không nhỏ hơn 500 cm²/l, có đột các lỗ có đường kính 0,6 cm, khoảng cách giữa các lỗ là 3,2 cm hoặc các lỗ có diện tích và sự phân bố tương đương.

3.3.7 Máy li tâm.

3.3.8 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,001 g.

3.3.9 Đũa khuấy, có đầu rộng bản, phẳng.

3.3.10 Gạc bông.

3.4 Lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu theo TCVN 5276 : 1990.

3.5 Chuẩn bị mẫu

3.5.1 Yêu cầu chung

Để tránh bị mất nước trong quá trình chuẩn bị và xử lý mẫu tiếp theo, nên sử dụng phần mẫu thử lớn. Giữ mẫu đã nghiền trong bình đậy kín khí. Tiến hành tất cả các phép xác định càng nhanh càng tốt. Nếu tiến hành chậm, nên làm lạnh phần mẫu thử để hạn chế sự phân huỷ.

CHÚ THÍCH Thông thường, khi chuẩn bị mẫu cá, lấy phần da và loại bỏ xương, nhưng về nguyên tắc là giữ lại toàn bộ những phần có thể ăn được, ví dụ, loại bỏ phần da cá trê không ăn được, giữ lại xương cá hồi đóng hộp đã được làm mềm và cá trích được lấy nguyên con.

3.5.2 Cá tươi

Cá được làm sạch, đánh vảy và bỏ ruột.

Đối với cá có chiều dài nhỏ hơn hoặc bằng 15 cm thì sử dụng từ 5 con đến 10 con.

Đối với cá cỡ trung bình, bỏ đầu, vảy, đuôi, vây, ruột và phần xương không ăn được, lọc phi lê để lấy toàn bộ phần thịt và da từ đầu đến đuôi.

Đối với cá lớn, lấy tối thiểu 3 con, mỗi con lấy 3 lát cắt ngang, mỗi lát dày 2,5 cm, 1 lát lấy ở ngay vây ngực, 1 lát lấy ở khoảng giữa từ lát cắt đầu tiên đến hậu môn và 1 lát ở ngay hậu môn. Loại bỏ xương.

Để xác định chất béo và các thành phần chất béo hoà tan, phải lấy cả da, vì có nhiều loại cá dự trữ một lượng lớn chất béo ở ngay dưới da.

Dùng máy xay phòng thử nghiệm (3.3.1) xay nhanh phần mẫu thử 3 lần. Sau mỗi lần, loại bỏ phần mẫu không nghiền được nhỏ từ máy xay và trộn kỹ mẫu. Máy xay phải có các lỗ càng nhỏ càng tốt (đường kính từ 1,5 mm đến 3 mm) và không được rò rỉ ở xung quanh đầu tay cầm.

Cách khác, đối với cá mềm, có thể sử dụng máy trộn tốc độ cao (3.3.1). Trộn mẫu trong vài phút, dùng máy trộn thường xuyên để cạo sạch mẫu ở thành bình.

3.5.3 Sản phẩm thủy sản đóng hộp

Cho toàn bộ mẫu đựng trong hộp vào máy trộn (3.3.1) và trộn cho đến khi đồng nhất hoặc xay 3 lần qua máy xay (3.3.1).

Đối với các hộp lớn, làm ráo trên sàng số 8 đến sàng số 12 (3.3.2) khoảng 2 min và thu lấy tất cả dịch lỏng. Xác định khối lượng của phần thịt và thể tích của dịch lỏng. Trộn phần mẫu thử (với tỉ lệ tương ứng của phần thịt và phần dịch lỏng) trong máy trộn hoặc máy xay (3.3.1) cho đến khi đồng nhất.

3.5.4 Sản phẩm thủy sản đóng hộp ngâm trong dầu, nước sốt, nước luộc thịt hoặc nước

Làm ráo mẫu trên sàng số 8 (3.3.2) trong khoảng 2 min. Chuẩn bị phần mẫu thử theo 3.5.3. Dịch lỏng có thể được phân tích riêng, nếu cần, hoặc gộp với phần cái của mẫu thử dạng rắn để phân tích.

3.5.5 Cá được ướp muối hoặc ngâm trong nước muối

Làm ráo mẫu, loại bỏ nước muối và tráng sạch các tinh thể muối bám dính bằng dung dịch NaCl bão hoà (3.2.1). Làm ráo lại mẫu trong 2 min và tiến hành như 3.5.2.

3.5.6 Cá muối khô hoặc cá xông khói khô, tiến hành như 3.5.2.

3.5.7 Cá đông lạnh

Rã đông cá ở nhiệt độ phòng và làm ráo nước.

Đối với cá phi lê đông lạnh, dùng toàn bộ thân thịt.

Đối với cá nguyên con đông lạnh, tiến hành như 3.5.2.

3.5.8 Động vật có vỏ khác với hào, trai và sò

Nếu mẫu thử còn vỏ thì rửa sạch như 3.5.9 và tách phần ăn được theo cách thông thường. Chuẩn bị phần mẫu ăn được dùng để phân tích như 3.5.2.

3.5.9 Hào, trai và sò còn vỏ

Rửa sạch vỏ hào, trai và sò bằng nước để loại bỏ tất cả bùn và chất bẩn, sau đó để ráo nước. Tách vỏ hào hoặc sò, cho phần thịt vào vật chứa khô, sạch có dung tích nhỏ nhất 500 ml. Chuyển từng miếng thịt vào dụng cụ làm ráo nước (3.3.6), thực hiện tách nước trong 2 min sau đó tiến hành như trong 3.5.10 hoặc 3.5.11.

3.5.10 Trai và sò đã tách vỏ, chuẩn bị như 3.5.3.

3.5.11 Hào đã tách vỏ

Trộn thịt cùng với dịch lỏng từ 1 min đến 2 min trong máy trộn tốc độ cao (3.3.1).

3.5.12 Cá tẩm bột mì, dạng nguyên liệu hoặc đã nấu chín

Tiến hành như 3.5.2, lấy cả phần bột mì và da cá.

3.6 Cách tiến hành

Cân 8 g mẫu đã chuẩn bị, chính xác đến 0,001 g, cho vào cốc có mỏ dung tích 50 ml (3.3.3) và thêm 2 ml axit clohydric (3.2.2). Dùng đũa khuấy (3.3.8) để làm vỡ các miếng đông kết cho đến khi thu được hỗn hợp đồng nhất. Thêm 6 ml axit clohydric (3.2.2), trộn đều, đậy kín bằng mặt kính đồng hồ và gia nhiệt trên nồi hơi (3.3.4) trong 90 min, thỉnh thoảng dùng đũa khuấy.

Làm nguội dung dịch và chuyển sang bình chiết chất béo kiểu Mojonnier (3.3.5). Tráng cốc có mỏ (3.3.3) và đũa (3.3.8) bằng 7 ml cồn (3.2.3), chuyển vào bình chiết và trộn. Tráng lại cốc có mỏ (3.3.3) và đũa (3.3.8) ba lần, mỗi lần dùng 25 ml ete (3.2.4) và cho nước tráng vào bình chiết, đậy bình bằng nút bần hoặc nút bằng cao su tổng hợp không bị ảnh hưởng bởi dung môi chất béo và lắc kỹ

trong 1 min. Thêm 25 ml ete dầu mỡ (3.2.5) vào bình chiết và lại lắc mạnh. Li tâm bình trong máy li tâm (3.3.7) với tốc độ khoảng 60 r/min trong 20 min.

CHÚ THÍCH 1 Nếu không tiến hành li tâm thì có thể chiết tách bằng cách để yên bình chiết chất béo kiểu Mojonnier (3.3.5) cho đến khi dịch lỏng phía trên gần như tách rõ, sau đó khuấy bình và lại để yên cho đến khi dịch lỏng phía trên tách rõ. Nếu nhũ tương của chất béo trong ete khó hình thành thì để yên bình sau đó rót hết dịch chứa chất béo trong ete ra, sau đó thêm từ 1 ml đến 2 ml cồn etylic (3.2.3) vào bình (3.3.5), lắc bình và lại để cho hỗn hợp phân tách.

Rót hết dịch ete có chứa chất béo qua bộ lọc có mảnh gạc bông (3.3.9) gắn chặt với phễu để dịch lỏng chảy tự do vào cốc có mỏ (3.3.3) chứa các mảnh sứ hoặc mảnh thủy tinh. Làm khô cốc có mỏ (3.3.3) chứa dịch lỏng trong tủ sấy ở 100 °C, sau đó để nguội trong không khí và cân cốc đến khối lượng không đổi.

CHÚ THÍCH 2 Đối với cá, thời gian sấy dịch chứa chất béo trong ete đến khối lượng không đổi không quá 40 min. Kéo dài khoảng thời gian sấy có thể làm tăng khối lượng chất béo thu được.

CHÚ THÍCH 3 Do kích cỡ của bình và bản chất của nguyên liệu, nên sai số làm nguội trong không khí nhỏ hơn khi làm nguội trong bình hút ẩm.

Chiết lại dịch lỏng còn lại trong bình chiết hai lần, mỗi lần dùng 15 ml ete (3.2.4) và 15 ml ete dầu mỡ (3.2.5). Lắc kỹ sau mỗi lần thêm ete. Rót hết dịch chiết trong ete qua bộ lọc vào cốc có mỏ đã sử dụng trước đó và rửa đầu tip của đầu nối, phễu và đầu cuối cuống phễu bằng vài mililit hỗn hợp của 2 loại ete với thể tích bằng nhau, không dùng nước. Làm bay hơi ete từ từ trên nồi hơi, sau đó sấy khô trong tủ sấy ở 100 °C đến khối lượng không đổi (khoảng 90 min). Lấy cốc và bộ lọc ra khỏi tủ sấy, để yên trong không khí đến khối lượng không đổi (khoảng 30 min) và cân.

Khối lượng chất béo thu được là tổng khối lượng thu được từ ba lần chiết và sấy khô.

Hiệu chỉnh khối lượng chất béo thu được bằng phép thử trắng trên thuốc thử đã sử dụng.

4 Phương pháp II: Phương pháp chưng cất trong dung môi hữu cơ

4.1 Nguyên tắc

Chất béo có trong mẫu thử được chiết tách bằng dung môi hữu cơ trong thiết bị Soxhlet (4.3.1), sau đó được sấy và cân.

4.2 Thuốc thử

Chỉ được sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

4.2.1 Natri sulfat (Na_2SO_4) khan hoặc canxi sulfat (CaSO_4) khan.

4.2.2 Ete etylic ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$), tinh khiết phân tích.

4.3 Thiết bị, dụng cụ

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

4.3.1 Thiết bị chưng cất Soxhlet.

4.3.2 Cối và chày, bằng sứ hoặc thủy tinh.

4.3.3 Nồi cách thủy, có thể điều chỉnh nhiệt độ thích hợp.

4.3.4 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,001 g.

4.3.5 Bình hút ẩm.

4.3.6 Giấy lọc, được cuộn thành ống kín một đầu.

4.3.7 Bông thấm nước.

4.4 Lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu theo TCVN 5276:1990.

4.5 Chuẩn bị mẫu

Xem 3.5.

4.6 Cách tiến hành

Cân từ 5 g đến 10 g mẫu thử đã chuẩn bị, chính xác đến 0,001 g, cho vào cối sứ (4.3.2), nghiền với khoảng 20 g đến 30 g natri sulfat khan hoặc canxi sulfat khan (4.2.1) để thu được hỗn hợp bột khô. Chuyển hết hỗn hợp thu được vào gói giấy lọc kín một đầu (4.3.6), dùng bông (4.3.7) thấm ete lau sạch cối chày sứ rồi cho luôn vào ống giấy, sau đó gói kín đầu lại (gói giấy phải bỏ lọt được vào bình chiết của thiết bị (4.3.1) và phải hơi thấp hơn chiều cao của ống xiphông).

Gói tiếp một lần giấy lọc nữa, chú ý không để hai mép giấy của hai lần gói trùng vào nhau. Đặt gói mẫu vào bình chiết của thiết bị rồi nối với bình cầu ở dưới (đã biết trước khối lượng).

Cho ete (4.2.2) vào bình chiết sao cho vừa ngập ống gói mẫu. Ngâm mẫu trong ete khoảng 3 h đến 4 h hoặc ngâm qua đêm.

Sau thời gian ngâm mẫu, nâng ống sinh hàn lên, cho thêm ete vào bình chiết vừa đủ để chảy xuống bình cầu. Chờ cho ete chảy hết, cho tiếp ete vào đến khoảng một nửa chiều cao ống xiphông. Lắp ống sinh hàn vào và cho nước lạnh chảy qua. Chưng cất trên nồi cách thủy (4.3.3) trong khoảng 10 h đến 12 h. Chú ý điều chỉnh nồi cách thủy sao cho ete tuần hoàn từ bình chiết xuống bình cầu và ngược lại khoảng 6 lần đến 7 lần một giờ, tránh đun ở nhiệt độ quá cao (trên 60 °C) vì sẽ làm hao hụt dung môi.

Sau thời gian chưng cất, chờ cho dung môi chảy hết xuống bình cầu thì ngưng đun, để nguội rồi tháo ống sinh hàn và lấy gói mẫu ra khỏi bình chiết. Lắp lại ống sinh hàn vào và chưng cất tiếp cho dung môi ngưng hết lên bình chiết của máy cất. Ngưng đun và lấy bình cầu ra, cho vào tủ sấy và sấy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C trong 30 min đến 40 min. Đem ra để nguội trong bình hút ẩm 30 min và cân, chính xác đến 0,001 g. Lại sấy tiếp 15 min rồi để nguội và cân. Lắp lại thao tác trên đến khi thu được khối lượng không đổi.

Khối lượng chất béo được tính bằng cách lấy khối lượng của bình cầu chứa chất béo đã sấy khô trừ đi khối lượng của bình cầu.

5 Tính và biểu thị kết quả

Hàm lượng chất béo, X , được biểu thị bằng phần trăm khối lượng (%), theo công thức:

$$X = \frac{m_1 \times 100}{m}$$

trong đó:

m_1 là khối lượng chất béo thu được (xem 3.6 hoặc 4.6), tính bằng gam (g);

m là khối lượng mẫu thử, tính bằng gam (g).

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

6 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các điều kiện thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy ý, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] AOAC 948.15, *Fat (Crude) in Seafood*.
- [2] AOAC 937.07, *Fish and Marine Products*.
- [3] AOAC 953.11, *Drained Liquid from Shucked Oysters* .
- [4] AOAC 922.06, *Fat in Flour* .