

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8103 : 2009

ISO 14156 : 2001

WITH AMENDMENT 1 : 2007

Xuất bản lần 1

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA –
PHƯƠNG PHÁP CHIẾT LIPIT VÀ
CÁC HỢP CHẤT HOÀ TAN TRONG LIPIT**

Milk and milk products –

Extraction methods for lipids and liposoluble compounds

HÀ NỘI – 2009

Lời nói đầu

TCVN 8103 : 2009 hoàn toàn tương đương với ISO 14156 : 2001, With Amendment 1 : 2007;

TCVN 8103 : 2009 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 đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Sữa và sản phẩm sữa –

Phương pháp chiết lipid và các hợp chất hoà tan trong lipid

Milk and milk products – Extraction methods for lipids and liposoluble compounds

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp chiết và tách phần chất béo, chứa các lipid và các hợp chất tan trong lipid ra khỏi sữa và các sản phẩm sữa.

Phương pháp này có thể áp dụng cho các phương pháp được mô tả trong ISO 12078, ISO 15884, ISO 15885 và ISO 18252.

Cần chú ý rằng các axit béo tự do không phải là một phần của chất béo chiết được bằng các phương pháp xác định hàm lượng chất béo trong sữa, sữa đặc, các sản phẩm sữa bột, cream và sữa lên men.

2 Thuật ngữ và định nghĩa

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

2.1

Lipid và các hợp chất hoà tan trong lipid (lipids and liposoluble compounds)

Các chất chiết được hoặc phân tách được theo các quy trình quy định trong tiêu chuẩn này.

3 Nguyên tắc

Lipid và các hợp chất hoà tan trong lipid của sữa và các sản phẩm sữa được chiết hoặc tách để phân tách tiếp. Đối với bơ và các sản phẩm khác chứa hàm lượng chất béo cao, thì phần lipid được tách bằng phương pháp vật lí. Đối với các sản phẩm khác, thì lipid và các hợp chất liên quan được chiết bằng dung môi sau khi chuẩn bị mẫu thích hợp.

4 Thuốc thử

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

4.1 Dung dịch amoniac, $c(\text{NH}_3) = 14 \text{ mol/l}$ ($\rho_{20} = 919 \text{ g/l}$).

4.2 Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), 96 % \pm 2 % thể tích.

4.3 Dietyl ete ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$), không chứa peroxit.

4.4 Natri sulfat khan (Na_2SO_4).

4.5 Dung dịch natri sulfat

Hoà tan 100 g natri sulfat khan (Na_2SO_4) trong nước. Pha loãng bằng nước đến 1 l.

4.6 *n*-Pentan.

4.7 Cát, không chứa chất hữu cơ.

5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Tủ sấy, duy trì nhiệt độ $50 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.2 Thiết bị chiết Soxhlet, có ống chiết.

5.3 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ trong khoảng $40 \text{ }^\circ\text{C}$ đến $60 \text{ }^\circ\text{C}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$ đến $40 \text{ }^\circ\text{C}$ và $50 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.4 Phễu chiết, dung tích 500 ml.

5.5 Ống đong, dung tích 100 ml và 250 ml.

5.6 Cốc có mỏ, dung tích 100 ml.

5.7 Giấy lọc, đường kính khoảng 15 cm, cỡ lỗ trung bình.

5.8 Bình nón, dung tích 250 ml.

5.9 Bình cầu đáy phẳng, dung tích 250 ml.

5.10 Máy cô quay, kèm theo các phụ kiện.

5.11 Thìa hoặc dao trộn.

6 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

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

Mẫu thử được bảo quản sao cho tránh hư hỏng hoặc biến đổi thành phần.

7 Chuẩn bị mẫu thử

7.1 Sữa nguyên liệu và cream nguyên liệu

Đưa mẫu thử đến nhiệt độ 35 °C đến 40 °C trên nồi cách thủy (5.3). Trộn mẫu bằng cách đảo chiều hộp sữa nhiều lần, sau đó làm nguội nhanh đến 20 °C ± 2 °C.

7.2 Sữa đã đồng nhất, cream đã đồng nhất và sữa lên men

Đưa mẫu thử đến nhiệt độ 20 °C ± 2 °C. Trộn hoặc khuấy mẫu thật kĩ.

7.3 Sữa cô đặc

Lắc và đảo chiều hộp chứa mẫu. Mở hộp chứa mẫu và rót từ từ mẫu sang hộp thử hai (có nắp đậy kín) và trộn kỹ bằng cách chuyển mẫu qua lại giữa hai hộp, chú ý lấy hết chất béo hoặc thành phần khác của mẫu còn dính lại trên thành và đáy hộp thử nhất. Cuối cùng, chuyển càng triệt để càng tốt sản phẩm sang hộp thử hai. Đậy nắp hộp.

Đối với các mẫu đựng trong hộp kín, thì để nguyên hộp trên nồi cách thủy (5.3) duy trì ở 40 °C đến 60 °C, nếu cần. Cứ 15 min lấy hộp ra và lắc mạnh. Sau 2 h, lấy hộp ra và để nguội đến nhiệt độ phòng. Mở hẳn nắp và dùng thìa hoặc dao trộn (5.11) để trộn kỹ mẫu.

7.4 Sữa đặc có đường

Mở hộp đựng mẫu và dùng thìa hoặc dao trộn để trộn kỹ. Lắc hộp theo chiều lên xuống sao cho các lớp phía trên và phía góc hộp trộn được với nhau. Chú ý lấy hết mẫu dính lại thành và đáy hộp thử nhất. Cuối cùng, chuyển càng triệt để càng tốt sản phẩm sang hộp thử hai (có nắp đậy kín). Đậy nắp hộp.

Khi mẫu đựng trong hộp kín, thì để hộp chưa mở trên nồi cách thủy (5.3) duy trì ở 30 °C đến 40 °C, nếu cần. Mở hộp, chuyển hết sữa còn dính trong hộp sang đĩa đủ rộng để có thể khuấy trộn kỹ. Trộn mẫu trên đĩa cho đến khi thu được sản phẩm đồng nhất.

TCVN 8103 : 2009

Khi mẫu đựng trong ống có thể gặp được, thì cất ống và chuyển lượng chứa bên trong ống sang bình. Sau đó cất mở hẳn ống và chuyển tất cả sản phẩm còn dính phía trong ống sang bình. Trộn mẫu trong bình cho đến khi thu được sản phẩm đồng nhất.

7.5 Các sản phẩm sữa bột

Trộn kỹ mẫu thử bằng cách quay và đảo chiều liên tiếp hộp đựng mẫu.

7.6 Phomat

Trước khi phân tích, loại bỏ lớp vỏ hoặc lớp mốc trên bề mặt mẫu thử để thu được mẫu phomat đại diện như thường được sử dụng.

8 Cách tiến hành

8.1 Khái quát chung

Đối với mẫu thử có hàm lượng phospholipit tương đối cao và hàm lượng lipit đơn tương đối thấp (ví dụ như buttermilk), quy trình chiết được lựa chọn sẽ ảnh hưởng đến thành phần axit béo trong chất béo chiết được. Đối với mẫu thử này, nên thực hiện theo quy trình được mô tả theo 8.3 và bổ sung khoảng 1,5 g natri clorua vào phần mẫu thử. Chất béo chiết được này có chứa các phospholipit. Thành phần axit béo của các phospholipit này khác đáng kể so với các thành phần của chất béo sữa khác.

8.2 Chất béo sữa dạng khan, buttermilk và bơ

Làm tan chảy 50 g đến 100 g mẫu thử trong tủ sấy (5.1) ở nhiệt độ 50 °C. Cho 0,5 g đến 1,0 g natri sulfat khan (4.4) vào một tờ giấy lọc gấp nếp. Lọc chất béo qua giấy lọc gấp nếp chứa natri sulfat khan và thu dịch lọc vào cốc có mỏ (5.6) đặt trong tủ sấy (5.1) ở nhiệt độ 50 °C. Trong khi gạt phần bơ nóng chảy vào giấy lọc (5.7), cẩn thận không để lẫn phần nước sữa chuyển theo.

8.3 Sữa nguyên liệu và sữa đồng nhất

Trộn 100 ml mẫu thử với 80 ml etanol (4.2) và 20 ml dung dịch amoniac (4.1) trong phễu chiết (5.4).

Thêm 100 ml dietyl ete (4.3) và lắc mạnh phễu trong 1 min. Để yên cho tách pha. Sau đó thêm 100 ml *n*-pentan (4.6) vào phễu và trộn kỹ. Để yên cho tách pha lần hai, sau đó loại bỏ lớp nước.

Thêm 100 ml dung dịch natri sulfat (4.5) vào phần còn lại trong phễu và trộn kỹ. Để yên cho hỗn hợp tách pha lần thứ ba và loại bỏ lớp nước. Tiếp tục thêm 100 ml dung dịch natri sulfat thứ hai vào phần còn lại trong phễu và lắc mạnh trong 1 min. Để yên cho tách pha và tiếp tục loại bỏ lớp nước. Chuyển lớp chất hữu cơ còn lại vào bình nón (5.8). Thêm từ 5 g đến 10 g natri sulfat khan (4.4), đậy nắp bình nón và trộn hỗn hợp trong bình.

Để yên bình 10 min rồi lọc hỗn hợp vào bình cầu đáy phẳng (5.9). Dùng máy cô quay (5.10) cho bay hơi hỗn hợp trong bình dưới áp suất giảm trên nồi cách thủy (5.3) ở nhiệt độ 50 °C cho đến khi quan sát thấy quá trình bay hơi kết thúc.

Lấy bình cầu ra khỏi máy cô quay. Thổi hỗn hợp bên trong bình cầu bằng dòng khí nitơ trong 1 min. Lắp bình cầu trở lại vào máy cô quay và tiếp tục làm bay hơi 10 min. Với bước làm bay hơi lần thứ hai này, thì việc bay hơi cũng không hoàn toàn. Lượng dung môi sót lại phải nhỏ hơn 2 % (khối lượng).

Đối với một số phép phân tích chất béo (ví dụ phân tích thành phần axit béo), việc làm bay hơi hoàn toàn dung môi là không cần thiết. Tuy nhiên, nếu việc chuyển hoàn toàn dung môi là bắt buộc, thì phải sấy bình cầu trong tủ sấy ở 102 °C đến khi thu được khối lượng không đổi.

CẢNH BÁO – Cần lưu ý rằng ở nhiệt độ 102 °C có thể xảy ra sự phân hủy chất béo (ví dụ axit linolenic) hoặc các thành phần khác của chất béo.

Lưu ý rằng chất béo được chiết ở trên không chứa các axit béo tự do.

8.4 Sữa đặc có đường, sữa cô, cream và sữa lên men

Pha loãng một lượng thích hợp mẫu thử để thu được khoảng 100 ml phần mẫu thử có chất béo chiếm khoảng 4 % (khối lượng). Tiến hành theo 8.3.

8.5 Sản phẩm sữa bột

Chuẩn bị phần mẫu thử bằng cách hoàn nguyên 10 g mẫu thử trong 100 ml nước cất. Đưa phần mẫu thử đến nhiệt độ 60 °C trong 30 min trên nồi cách thủy (5.3), trong thời gian này lắc liên tục. Để nguội đến nhiệt độ phòng và tiến hành theo 8.3.

8.6 Phomat

Nạo hoặc nghiền mẫu tùy theo cấu trúc của phomat.

Chuyển một lượng mẫu thử chứa khoảng 4 g chất béo vào cối nghiền. Nghiền mẫu thật kĩ bằng hỗn hợp của cát (4.7) và natri sulfat (4.4) (1 + 1) để thu được mẫu thử khô.

CHÚ THÍCH Lượng hỗn hợp natri sulfat/cát cần dùng phụ thuộc vào hàm lượng nước trong phomat.

Chuyển hết phần mẫu thử vào ống chiết và đặt ống này (có nắp đậy, ví dụ bằng nút len cotton) vào ngăn của thiết bị chiết Soxhlet (5.2). Cho vào bình cầu 250 ml *n*-pentan (4.6) và chiết mẫu có hồi lưu trong 6 h.

Dùng máy cô quay (5.10), làm bay hơi hỗn hợp trong bình dưới áp suất giảm trên nồi cách thủy (5.3) ở nhiệt độ 50 °C, cho đến khi quan sát thấy quá trình bay hơi kết thúc.

TCVN 8103 : 2009

Lấy bình cầu ra khỏi máy cô quay và thổi hỗn hợp trong bình bằng dòng khí nitơ trong 1 min. Lắp bình cầu vào lại máy cô quay và tiếp tục cho bay hơi trong 10 min. (Xem CẢNH BÁO trong 8.3.)

Nếu cần xác định hàm lượng cholesterol trong phomat, thì qui trình chiết mô tả trong điều này là chưa hoàn toàn. Khi đó, tiến hành như sau: hòa tan một lượng mẫu thử có chứa khoảng 4 g chất béo trong 100 ml nước cất. Tiến hành tiếp như trong 8.3.

9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp chiết đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, cùng với các chi tiết bất thường khác có thể ảnh hưởng tới kết quả.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.
 - [2] ISO 12078, IDF 159 Anhydrous milk fat – Determination of sterol composition by gas liquid chromatography (Reference method).
 - [3] ISO 15884, IDF 182 Milk fat – Preparation of fatty acid methyl esters.
 - [4] ISO 15885, IDF 184 Milk fat – Determination of the fatty acid composition by gas-liquid chromatography.
 - [5] ISO 18252, IDF 200 Anhydrous milk fat – Determination of sterol composition by gas liquid chromatography (Routine method).
-