

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 6508:2007

ISO 1211:1999

Xuất bản lần 2

**SỮA – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT BÉO –
PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

Milk – Determination of fat content – Gravimetric method (reference method)

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 6508:2007 thay thế TCVN 6508:1999;

TCVN 6508:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 1211:1999;

TCVN 6508:2007 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 và Công nghệ công bố.

Sữa – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)

Milk – 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 qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp chuẩn để xác định hàm lượng chất béo của sữa. Phương pháp này có thể áp dụng cho sữa nguyên liệu và sữa đã chế biến dạng lỏng, sữa đã tách một phần chất béo và sữa gầy trong đó việc tách hoặc phân chia chất béo do phân giải lipit là không đáng kể (xem chú thích trong điều 8).

CHÚ THÍCH Khi yêu cầu độ chính xác cao hơn đối với sữa gầy, thí dụ để bộ tách kem làm việc có hiệu quả, nên sử dụng phương pháp đặc biệt đối với sữa gầy được qui định trong ISO 7208.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

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 các 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 phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Hàm lượng chất béo được tính bằng phần trăm khối lượng [thường được tính theo % (m/m)].

4 Nguyên tắc

Chiết phần mẫu thử trong dung dịch etanola chứa amoniac bằng ete dietyl và xăng 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 Điều này thường được gọi là nguyên tắc Rose-Gottlieb.

5 Thuốc thử

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

Tất cả các thuốc thử phải là loại phân tích và để lại lượng cặn không đáng kể khi thực hiện phép thử theo qui định (9.2.2).

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

CHÚ THÍCH Nếu không có sẵn dung dịch amoniac nồng độ này thì có thể sử dụng dung dịch có nồng độ biết trước cao hơn (xem 9.4.1).

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

5.3 Dung dịch đỏ Congo

Hoà tan 1 g đỏ Congo trong nước đựng trong bình định mức một vạch 100 ml (6.14). Pha loãng bằng nước đến vạch.

CHÚ THÍCH Việc sử dụng dung dịch này để phân biệt rõ hơn lớp phân cách giữa dung môi và nước là tùy chọn (xem 9.4.2). Có thể sử dụng các dung dịch màu dạng lỏng khác với điều kiện là chúng không ảnh hưởng đến kết quả xác định.

5.4 Ete dietyl ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$), không chứa các peroxit (xem A.3) và có chứa không chứa 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).

CHÚ THÍCH Việc sử dụng ete dietyl có thể dẫn đến các tình huống độc hại. Vì vấn đề an toàn mà hiện nay người ta đang nghiên cứu để thay thế ete dietyl bằng thuốc thử khác với điều kiện là nó không ảnh hưởng đến kết quả cuối cùng của phép xác định.

5.5 Xăng nhẹ, có nhiệt độ sôi trong khoảng từ 30 °C đến 60 °C hoặc tương đương như pentan ($\text{CH}_3[\text{CH}_2]_3\text{CH}_3$) có điểm sôi ở 36 °C, phù hợp với các yêu cầu cho phép thử trắng (xem 9.2.2, A.1 và A.4).

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

5.6 Dung môi hỗn hợp.

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

6 Thiết bị, dụng cụ

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

Sử dụng các thiết bị phòng thử nghiệm thông thường và các dụng cụ sau:

6.1 Cân phân tích, có khả năng cân chính xác đến 1 mg, có thể đọc đến 0,1 mg

6.2 Máy ly tâm, có các bình cầu chiết chất béo hoặc có các ống chiết (6.6) có thể quay từ 500 vòng đến 600 vòng trên 1 phút để tạo ra được trường hấp dẫn khoảng 80 g đến 90 g ở miệng của bình chiết hoặc ống chiết.

CHÚ THÍCH Việc sử dụng máy ly tâm là tùy chọn, nhưng khuyến cáo sử dụng loại thiết bị này (xem 9.4.5).

6.3 Thiết bị chung cất hoặc làm bay hơi, để chung cất các dung môi và etanol từ các bình cầu hoặc bình đun sôi, hoặc làm bay hơi các cốc và đĩa (xem 9.4.12) 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 $102 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ trong suốt khoang sấy.

Lò được gắn với một nhiệt kế thích hợp.

6.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì nhiệt độ ở 35 °C đến 40 °C.

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

CHÚ THÍCH Cũng có thể dùng ống nghiệm chiết chất béo, có si phông hoặc nối với chai rửa, nhưng qui trình này có khác và được qui định trong phần phụ lục B.

Các bình này phải được đậy bằng nút bán 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 bán phải được chiết bằng ete dietyl (5.4), giữ ít nhất là 15 phút ở nhiệt độ 60 °C hoặc lớn hơn và sau đó được ngâm trong nước sao cho chúng bão hoà nước khi sử dụng.

6.7 Giá, để giữ bình chiết chất béo (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 làm bằng chất dẻo.

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

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

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

6.11 Ống đồng, dung tích 5 ml và 25 ml.

6.12 Pipet chia độ, dung tích 10 ml.

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

6.14 Bình định mức, một vạch dung tích 100 ml.

7 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 là mẫu đại diện và không bị thay đổi hoặc suy giảm chất lượng trong quá trình bảo quản và vận chuyển.

Tất cả các mẫu thử nghiệm phải được bảo quản ở nhiệt độ trong khoảng từ 2 °C đến 6 °C từ khi lấy mẫu cho đến khi tiến hành thử nghiệm.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Làm ấm mẫu thử đến nhiệt độ từ 35 °C đến 40 °C bằng nổi cách thủy (6.5). Lắc kỹ mẫu một cách nhẹ nhàng, bằng cách lật ngược chai đựng mẫu, tránh tạo bọt hoặc tạo kem. Làm nguội nhanh mẫu thử đến

khoảng 20 °C. Khi sữa đã đánh thành kem thì không làm nguội nữa vì chúng sẽ được cân ở nhiệt độ từ 30 °C đến 40 °C (xem 9.1).

Nếu có thể thu được mẫu thử đồng nhất mà không cần phải làm ấm trước đến nhiệt độ từ 30 °C đến 40 °C (ví dụ: đối với các mẫu sữa gầy), thì phải tuân thủ qui trình sau đây:

Đưa mẫu thử về nhiệt độ 20 °C. Trộn kỹ để đảm bảo được sự đồng nhất của hỗn hợp chất béo trong mẫu thử. Không khuấy quá mạnh vì có thể dẫn đến tạo bọt hoặc tạo kem butterfat.

CHÚ THÍCH Giá trị thực của hàm lượng chất béo có thể sẽ không như mong muốn khi:

- a) sữa bị đánh thành kem;
- b) khi cảm nhận được mùi đặc trưng của các axit béo tự do;
- c) trong suốt quá trình hay sau khi chuẩn bị mẫu thử, nhìn thấy hạt trắng bám trên thành của chai đựng mẫu hoặc những mảng chất béo nhỏ trên bề mặt mẫu thử.

9 Cách tiến hành

CHÚ THÍCH 1 Nếu cần phải kiểm tra giới hạn về độ lặp lại (11.2) thì tiến hành hai phép xác định đơn lẻ theo 9.1 đến 9.4.

CHÚ THÍCH 2 Một qui trình thay thế khác sử dụng ống chiết chất béo có gắn với si-phông hoặc chai rửa (xem chú thích trong 6.6) được đưa ra trong phụ lục B.

9.1 Phần mẫu thử

Trộn mẫu thử (điều 8) bằng cách đảo ngược chai nhẹ nhàng ba lần hoặc bốn lần. Cân ngay, từ 10 g đến 11 g mẫu thử chính xác đến 1 mg, cho trực tiếp hoặc gián tiếp vào các bình chiết chất béo (6.6).

Phải chuyển toàn bộ phần mẫu thử sang bầu thấp (nhỏ) hơn 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 qui trình và dùng cùng một loại thuốc thử, nhưng thay phần mẫu thử trong 9.4.1 bằng 10 ml nước (xem A.2).

Nếu giá trị thu được trong phép thử trắng này vượt quá 1,0 mg, thì kiểm tra thuốc thử, nếu trước đó nó chưa được kiểm tra (9.2.2). Việc điều chỉnh giá trị lớn hơn 2,5 mg cần được nêu ra 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 qui định trong 9.2.1. Sử dụng thêm một bình thu nhận chất béo rỗng, được chuẩn bị theo qui định trong 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 thuốc thử để lại lượng cặn lớn hơn 1,0 mg, thì xác định lượng cặn của từng dung môi riêng rẽ bằng cách chưng cất 100 ml ete dietyl (5.4) và xăng nhẹ (5.5), tương ứng. 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 không lớn hơn 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 đối với 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 trong 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) cùng vài hạt trợ sôi (6.10) trong tủ sấy (6.4) đặt ở 102 °C trong 1 giờ.

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 sử dụng bình thu nhận chất béo bằng thủy tinh; tùy ý trong trường hợp dùng đĩa kim loại.

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

CHÚ THÍCH 2 Không nên đặt bình trong tủ hút ẩm, tránh chưa đủ nguội hoặc thời gian làm nguội bị kéo dài.

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

CHÚ THÍCH 3 Tốt nhất là dùng kẹp để tránh sự thay đổi nhiệt độ.

9.4 Xác định

9.4.1 Tiến hành xác định ngay.

Cho 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 trong bình chiết chất béo (9.1). Lắc kỹ phần mẫu thử đựng trong bầu nhỏ của bình chiết chất béo.

9.4.2 Thêm 10 ml etanol (5.2). Lắc 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; không để cho chất lỏng dâng lên quá gần cổ bình. Tốt nhất là nên cho thêm hai giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

9.4.3 Thêm 25 ml ete dietyl (5.4). Đậy bình bằng nút bần đã bão hoà nước (xem 6.6) hoặc đậy bằng nút làm bằng chất liệu khác (xem 6.6) đã được làm ướt bằng nước. Lắc mạnh bình trong vòng 1 phút 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, 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 cầu bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào bình.

9.4.4 Cho thêm 25 ml xăng nhẹ (5.5). Đậy bình bằng nút bần hoặc nút khác đã là ướt lại bằng nước (ngâm vào trong nước). Lắc bình cầu nhẹ nhàng trong vòng 30 giây như mô tả trong 9.4.2. Thực hiện việc lắc như mô tả trong 9.4.3.

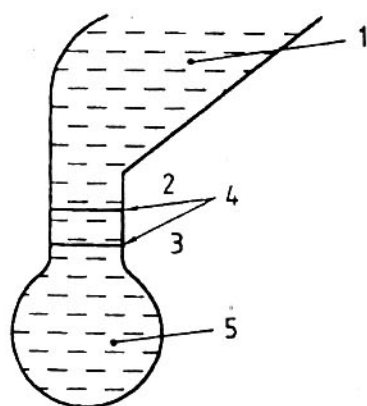
9.4.5 Cho ly tâm bình chiết chất béo đã đậy kín trong máy ly tâm (6.2) từ 1 phút đến 5 phút ở gia tốc quay từ 80 g đến 90 g. Nếu không có máy ly tâm, đặt bình cầu đậy kín trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 phút cho đến khi thấy có lớp nổi trên bề mặt rõ rệt và phân biệt rõ với lớp chất lỏng. Nếu cần, làm mát bình cầu dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

9.4.6 Cẩn thận lấy nút ra, dùng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) để tráng nút vào phía trong cổ bình chiết chất béo. Dùng chai rửa (6.8) để tráng bình sao cho nước rửa chảy vào bình cầu. Nếu mặt lớp phân cách thấp hơn chỗ thắt cổ bình, thì cần nâng cao mức này lên một chút bằng cách nhẹ nhàng cho 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 qui định trong ISO 3889 đã được chọn, nhưng điều này không có nghĩa là nó được ưu tiên hơn loại khác.

9.4.7 Giữ bình chiết tại bầu nhỏ, cẩn thận gạn được càng nhiều càng tốt lớp nổi trên bề mặt vào bình thu nhận chất béo (9.3) có chứa một ít chất trợ sôi (6.10) trong trường hợp đối với bình nón hoặc với bình đun sôi (còn đối với đĩa kim loại thì tùy ý). Tránh không gạn bất kỳ một chút chất lỏng nào vào bình (xem hình 2).

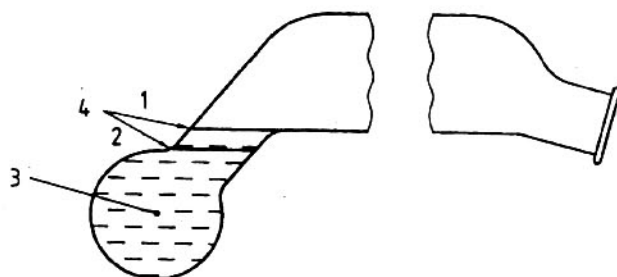
9.4.8 Tráng phía ngoài cổ bình chiết bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6), thu lấy nước rửa vào bình thu nhận chất béo. Chú ý không để dung môi hỗn hợp tràn ra thành ngoài của bình chiết. Tốt nhất, nên loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình nhận bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như mô tả trong 9.4.12.



Chú giải

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

Hình 1 – Trước khi gạn



Chú giải

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

Hình 2 – Sau khi gạn

9.4.9 Cho 5 ml etanol (5.2) vào lượng chất chứa trong bình chiết chất béo. Dùng etanol để tráng bên trong cổ bình và lắc đều như mô tả trong 9.4.2.

9.4.10 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong 9.4.3 đến hết 9.4.7. Chỉ dùng 15 ml ete dietyl (5.4) và 15 ml xăng nhẹ (5.5) để thay cho 25 ml. Dùng ete dietyl 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 cho thêm nước theo thành bình (xem Hình 1) để có thể gạn hết dung môi càng nhiều càng tốt (xem Hình 2).

9.4.11 Thực hiện chiết lần ba, không cho thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong 9.4.3 đến hết 9.4.7. Chỉ sử dụng 15 ml ete dietyl (5.4) và 15 ml xăng nhẹ (5.5). Dùng ete dietyl 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 cho thêm nước theo thành bình để có thể gạn dung môi càng nhiều càng tốt (xem hình 2).

CHÚ THÍCH Lần chiết thứ ba có thể bỏ qua đối với sữa có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 0,5 %.

9.4.12 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 làm bay hơi nếu sử dụng cốc có 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.

9.4.13 Đun nóng bình thu nhận chất béo, đối với bình nón hoặc bình đun sôi thì đặt chúng nằm nghiêng để hơi dung môi thoát ra được, trong 1 giờ để trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C. Lấy bình thu nhận chất béo ra khỏi lò sấy và kiểm tra ngay xem chất béo đã trong hay chưa. Nếu chất béo không trong, thì trong chất béo bị coi là có tạp chất và phải lặp lại toàn bộ qui 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 tối thiểu 1 giờ còn đối với đĩa kim loại tối thiểu là 30 phút).

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

9.4.14 Đun nóng bình thu nhận chất béo, đối với bình nón hoặc bình đun sôi thì đặt chúng nằm nghiêng để hơi dung môi thoát ra được, tiếp theo 30 phút trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C. Để nguội và cân lại theo 9.4.13. Nếu cần, lặp lại các qui 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 Phương pháp tính

Tính hàm lượng chất béo theo công thức :

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

trong đó

w_f là phần trăm khối lượng của chất béo có trong mẫu thử;

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

m_1 là khối lượng của bình thu nhận chất béo và chất chiết được, xác định được trong 9.4.14, tính bằng gam;

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

m_3 là khối lượng của bình thu nhận chất béo sử dụng trong thử mẫu trắng (9.2) và chất chiết xác định được trong 9.4.14, tính bằng gam;

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

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 5725¹⁾ về độ chụm của phương pháp đã được công bố (xem tài liệu tham khảo [6] và [7]).

Các giá trị về độ lặp lại và độ tái lập được biểu thị cho 95 % mức có khả năng và có thể không thể áp dụng 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 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 quá 5 % các trường hợp lớn hơn phần khối lượng của:

- 0,02 %, đối với sữa nguyên liệu và sữa đã chế biến dạng lỏng;
- 0,02 %, đối với sữa có phần khối lượng chất béo từ 0,5 % đến 2 %;
- 0,01 %, đối với sữa có phần khối lượng chất béo nhỏ hơn 0,5 %.

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 các người phân tích khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau trong các phòng thử nghiệm khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn phần khối lượng của:

- 0,04 %, đối với sữa nguyên liệu và sữa đã chế biến dạng lỏng;
- 0,03 %, đối với sữa có phần khối lượng chất béo từ 0,5 % đến 2 %;
- 0,025 %, đối với sữa có phần khối lượng chất béo nhỏ hơn 0,5 %.

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

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- mọi thông tin cần thiết về 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;
- 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 độ lặp lại được kiểm tra, thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A (tham khảo)

Các 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, sẽ không tăng quá 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 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 Tiến hành phép thử trắng đồng thời với việc xác định (xem 9.2.1)

Giá trị thu được trong thử mẫu trắng, tiến hành đồng thời với việc xác định, cho phép giá trị biểu kiến của các chất chiết được từ phần mẫu thử ($m_1 - m_2$) điều chỉnh cho sự có mặt của chất không bay hơi chiết được từ thuốc thử và cũng như khi có bất kì 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 của hai lần cân (9.4.14 hoặc 9.4.16).

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), thì giá trị này sẽ luôn luôn 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 đến 2,5 mg (dương và âm). Sau khi điều chỉnh các giá trị này, các kết quả sẽ đúng. Khi phải điều chỉnh giá trị lớn hơn 2,5 mg thì phải nêu lên trong phần báo cáo kết quả (điều 12).

Nếu giá trị thu được trong phép thử trắng thường lớn hơn 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 mới hoặc làm sạch lại (xem 9.2.2 và A.1).

A.3 Thử đối với peroxit

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

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

Để đảm bảo cho ete dietyl không chứa peroxit, xử lý 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 80 cm² lá kẽm cho 1 lit ete dietyl.

Trước khi sử dụng, nhúng toàn bộ các dải lá kẽm này 1 phút trong dung dịch chứa 10 g đồng (II) sunfat ngậm 5 phân tử nước (CuSO₄.5H₂O) và 2 ml/l axit sunfuric [98 %(m/m)] đậm đặc.

Rửa kỹ các dải này nhẹ nhàng bằng nước, rồi đặt các dải đã mạ đồng còn ướt này vào trong chai đựng ete dietyl và để chúng trong chai.

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

A.4 Ete dietyl có chứa chất chống oxi hoá

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

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

A.5 Etanol

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

Phụ lục B

(tham khảo)

Cách tiến hành khác dùng ống chiết chất béo có si phong hoặc có nối với chai rửa

B.1 Khái quát

Nếu sử dụng ống chiết chất béo có si phong hoặc có nối với chai rửa thì tiến hành theo qui định trong phụ lục này. Các ống này phải có nắp đậy hoặc nút bần chất lượng tốt như được qui định đối với bình cầu 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 qui định trong 9.1 nhưng dùng các ống chiết chất béo (xem chú thích trong 6.6 và Hình B.1).

Phần mẫu thử này phải cố gắng chuyển hết vào 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 Sau khi thêm amoniac, tiến hành xác định ngay.

Cho 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.2.2). Lắc kỹ với phần mẫu thử đã xử lý trước ở trên đáy của ống nghiệm.

B.2.5.2 Cho thêm 10 ml etanol (5.2). Lắc kỹ một cách nhẹ nhàng trên đáy của ống. Nếu cần nên thêm 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

B.2.5.3 Thêm 25 ml ete dietyl (5.4). Đậy nắp ống chiết chất béo bằng nút bần đã bão hoà nước (6.6) hoặc bằng nắp làm bằng chất liệu khác đã làm ướt bằng nước (xem 6.6). Lắc mạnh ống nghiệm, nhưng không quá mạnh (để tránh tạo nhũ) bằng cách đảo chiều trong khoảng 1 phút. Nếu cần, làm mát ống nghiệm dưới dòng nước chảy. Mở nút một cách cẩn thận, sử dụng chai rửa (6.8) để tráng nút và cổ ống nghiệm bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) sao cho nước rửa chảy vào ống nghiệm.

B.2.5.4 Thêm 25 ml xăng 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 giây như mô tả trong B.2.5.3.

B.2.5.5 Cho ly tâm ống chiết chất béo đã đậy nút trong máy ly tâm (6.2) từ 1 phút đến 5 phút ở gia tốc 80 g đến 90 g. Nếu không có máy ly tâm, đặt ống nghiệm trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 phút cho đến khi thấy có lớp nổi lên bề mặt rõ rệt và phân biệt rõ với lớp chất lỏng. Nếu cần, làm mát ống nghiệm dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

B.2.5.6 Cẩn thận tháo bỏ nút hoặc nắp, tráng nút 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 nghiệm.

B.2.5.7 Lắp khớp nối si phông hoặc nối với chai rửa vào ống chiết chất béo và đẩy ống nối bên trong cho 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 được càng nhiều càng tốt lớp nổi trên bề mặt của 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 nún (còn đối với đĩa kim loại thì tùy ý). Không để lớp chất 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.2.5.8 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 chèn 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 nhận bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như trong 9.4.13.

B.2.5.9 Tháo lại khớp nối khỏi cổ của ống nghiệm. 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 và lắc đều như mô tả trong B.2.5.2.

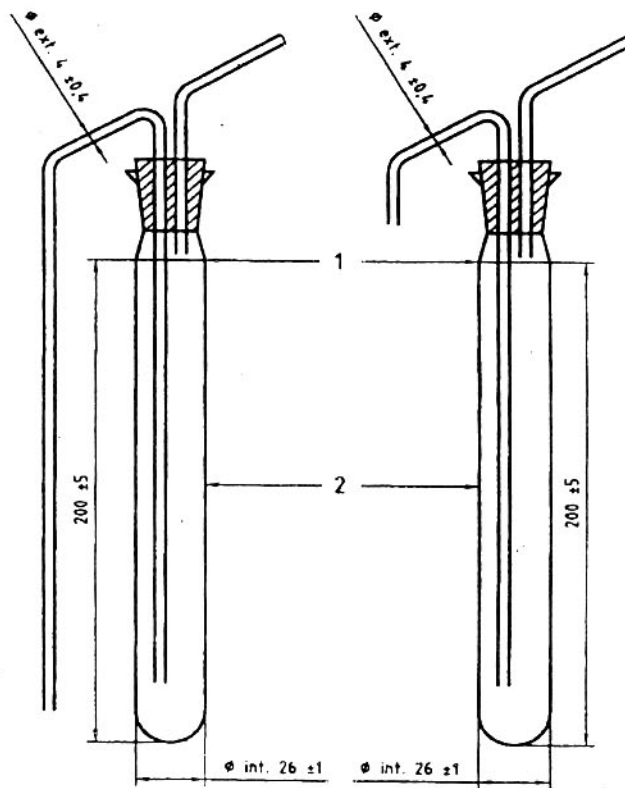
B.2.5.10 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong B.2.5.3 đến hết B.2.5.8. Thay 25 ml bằng 15 ml ete dietyl (5.4) và 15 ml xăng nhẹ (5.5). Dùng ete dietyl để tráng thành trong của khớp nối. Trong suốt quá trình tháo khớp nối ra khỏi ống chiết chất béo sau lần chiết lần trước.

B.2.5.11 Thực hiện chiết lần ba, không cho thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong B.2.5.3 đến B.2.5.8. Lặp lại, chỉ dùng 15 ml ete dietyl và 15 ml xăng nhẹ. Dùng ete dietyl để tráng thành trong của khớp nối như mô tả trong B.2.5.10.

CHÚ THÍCH Lần chiết ba nên bỏ qua đối với sữa có hàm lượng béo nhỏ hơn 0,5 %.

B.2.5.12 Tiến hành tiếp theo như mô tả trong 9.4.12 đến 9.4.14.

Kích thước tính bằng milimét



a) có gắn ống si phông

b) có gắn bình rửa

Chú giải

- 1 Dung dịch khi tháo khớp nối 105 ml ± 5 ml.
- 2 Độ dày của thành 1,5 mm ± 0,5 mm.

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

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 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994), Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.
 - [4] TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994), Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.
 - [5] ISO 7208, Skimmed milk, whey and buttermilk - Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method).
 - [6] AOAC International Interlaboratory Study. J.AOAC.71,898 (1988).
 - [7] International Dairy Federation. Interlaboratory Collaborative Studies, Second series. Bull.Int. Dairy Fed.
-