

Thức ăn chăn nuôi - Xác định hàm lượng chất béo

Animal feeding stuffs – Determination of fat content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng chất béo trong thức ăn chăn nuôi. Phương pháp này áp dụng đối với thức ăn chăn nuôi trừ hạt có dầu và khô dầu.

Theo phương pháp này, người ta phân biệt hai nhóm thức ăn gia súc. Những sản phẩm thuộc nhóm B cần thủy phân trước khi chiết chất béo.

Nhóm B:

- thức ăn hoàn toàn có nguồn gốc từ động vật bao gồm cả các sản phẩm từ sữa;
- thức ăn hoàn toàn có nguồn gốc từ thực vật do vậy không thể chiết chất béo mà không qua quá trình thủy phân; đặc biệt là gluten, nấm men, protein của đậu tương và khoai tây, và những thức ăn đã qua xử lý nhiệt;
- thức ăn hỗn hợp gồm những sản phẩm chứa ít nhất 20 % chất béo.

Nhóm A:

- những thức ăn gia súc không thuộc nhóm B.

Chú thích - Phương pháp xác định hàm lượng dầu trong khô dầu bằng cách chiết bằng hexan được mô tả trong ISO 734-1 [2], còn phương pháp xác định hàm lượng dầu bằng cách chiết dietyl ete được mô tả trong TCVN 4802 - 89 (ISO 736 [3]).

Phương pháp xác định hàm lượng dầu trong hạt có dầu bằng cách chiết bằng hexan được mô tả trong ISO 659 [1].

TCVN 4331 : 2001

2 Tiêu chuẩn viện dẫn

TCVN 4851 - 89 (ISO 3696) Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Phương pháp thử và yêu cầu kỹ thuật.

TCVN 6952 : 2001 (ISO 6498) Thức ăn chăn nuôi – Chuẩn bị mẫu thử.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các định nghĩa sau.

3.1 Hàm lượng chất béo (Fat content)

Phần khối lượng của những chất được chiết từ mẫu theo quy trình của tiêu chuẩn này.

Chú thích - Hàm lượng chất béo được biểu thị bằng gam trên kilogam hoặc phần trăm khối lượng.

4 Nguyên tắc

4.1 Mẫu có hàm lượng chất béo tương đối cao (ít nhất là 200 g/kg) được chiết sơ bộ bằng xăng nhẹ.

4.2 Những mẫu thuộc nhóm B được thủy phân bằng axit clohydric nhờ tác dụng của nhiệt. Dung dịch được làm nguội và đem lọc. Rửa và làm khô cặn thu được sau đó chiết bằng xăng nhẹ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất và làm khô. Đem cân phần thu được.

4.3 Những mẫu thuộc nhóm A được chiết bằng xăng nhẹ. Loại bỏ dung môi bằng cách chưng cất và làm khô. Đem cân phần thu được.

5 Thuốc thử và hóa chất

Chỉ dùng những thuốc thử được công nhận dùng trong phân tích.

5.1 **Nước:** ít nhất phải ở mức loại 3 theo TCVN 4851 - 89 (ISO 3696).

5.2 **Natri sunfat:** khan.

5.3 **Xăng nhẹ:** gồm chủ yếu hydrocarbon có sáu nguyên tử cacbon, dải nhiệt độ sôi từ 40°C đến 60°C.

Chỉ số brom phải nhỏ hơn 1. Cặn bay hơi phải nhỏ hơn 20 mg/l.

Có thể thay thế bằng hexan vì cũng có cặn bay hơi nhỏ hơn 20 mg/l.

5.4 **Tinh thể cacbua silic** hoặc **các bi thủy tinh.**

5.5 **Aceton.**

5.6 Axit clohydric: $c(\text{HCl}) = 3 \text{ mol/l}$.

5.7 Chất trợ lọc: ví dụ diatomit (Kieselguhr), đã được đun sôi trong axit clohydric nồng độ 6 mol/l trong 30 phút, dùng nước rửa sạch axit rồi sấy khô ở 130°C .

6 Thiết bị, dụng cụ

Thiết bị thường dùng trong phòng thí nghiệm, bao gồm những thiết bị sau

6.1 Phễu chiết: không dính mỡ và dầu, phải rửa bằng ete.

6.2 Bộ chiết Soxhlet: có dung tích si công khoảng 100 ml hoặc bộ chiết tuần hoàn khác.

6.3 Thiết bị đun nóng: điều chỉnh được nhiệt độ, nhưng không trực tiếp với nguồn nhiệt.

6.4 Tủ sấy: có khả năng duy trì ở nhiệt độ $(103 \pm 2)^\circ\text{C}$.

6.5 Tủ sấy chân không: có khả năng duy trì ở nhiệt độ $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$ và giảm áp suất xuống dưới 13,3 kPa, có bộ phận làm khô không khí hoặc có chất hút ẩm như oxit canxi.

6.6 Bình hút ẩm: chứa chất hút ẩm hiệu quả.

7 Lấy mẫu

Phương pháp lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo ISO 6497 [4].

Mẫu gửi đến phòng thí nghiệm là mẫu phải trung thực và có tính đại diện, không bị hư hại hoặc biến đổi thành phần trong quá trình vận chuyển và bảo quản.

Trong quá trình bảo quản mẫu giảm tối thiểu sự hư hại và sự biến đổi thành phần của mẫu.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6952 : 2001 (ISO 6498).

9 Cách tiến hành

9.1 Chọn quy trình

Nếu mẫu thử khó nghiền hoặc khó đồng nhất do hàm lượng chất béo cao (trên 200 g/kg) thì làm theo 9.2.

Các trường hợp khác làm theo 9.3.

9.2 Chiết sơ bộ

9.2.1 Cân ít nhất 20 g (m_0) mẫu thử đã chuẩn bị (điều 8), chính xác đến 1 mg và trộn với 10 g natri sunfat khan (5.2). Chuyển toàn bộ vào phễu chiết (6.1) và bịt nút bông không chứa chất béo.

Cho vài tinh thể cacbua silic (5.4) vào bình khô. Nếu tiến hành kiểm tra chất lượng chất béo tiếp theo thì sử dụng các bi thủy tinh thay cho các tinh thể cacbua silic. Lắp bình vào bộ chiết để thu phần chiết xăng nhẹ.

Lắp phễu chiết vào bộ chiết (6.2) và tiến hành chiết chất béo bằng xăng nhẹ (5.3) trong 2 giờ. Điều chỉnh thiết bị đun nóng (6.3) vừa phải, nếu dùng loại chiết Soxhlet thì trong 1 giờ thực hiện ít nhất 10 lần chiết tuần hoàn, hoặc tốc độ chảy ít nhất là 5 giọt trong 1 giây (khoảng 10 ml/phút) nếu dùng thiết bị chiết tương tự.

Pha loãng phần xăng nhẹ chiết được trong bình đến 500 ml bằng xăng nhẹ (5.3) và trộn đều. Cân (m_1) bình khô, chính xác 1 mg, có chứa vài tinh thể cacbua silic hoặc bi thủy tinh (5.4). Dùng pipet hút 50 ml dung dịch xăng nhẹ cho vào bình này.

9.2.2 Đun nóng bình cho bay gần hết dung môi. Thêm vào bình 2 ml aceton (5.5), lắc đều và đun nóng nhẹ thiết bị đun nóng (6.3) để đuổi aceton. Đuổi hết những vết aceton cuối cùng. Làm khô cạn thu được trong $(10 \pm 0,1)$ phút trong tủ sấy (6.4) ở 103°C . Làm nguội trong bình hút ẩm (6.6) và cân (m_2) chính xác đến 0,1 mg.

Hoặc có thể áp dụng quá trình sau:

Làm bay hết dung môi. Làm khô cạn thu được trong bình trong 1,5 giờ trong tủ sấy chân không (6.5) ở 80°C . Để nguội trong bình hút ẩm (6.6) và cân (m_2) chính xác đến 0,1 mg.

9.2.3 Cho cạn chiết trong phễu chiết khô trong không khí để bay hết dung môi. Cân (m_3) cạn này chính xác đến 0,1 mg.

Nghiên cạn đến khi kích thước hạt đạt 1 mm.

Làm tiếp theo 9.3.

9.3 Phần mẫu thử

Cân 5 g mẫu (m_4) đã chuẩn bị ở trên (điều 8 hoặc 9.2) chính xác đến 1 mg.

Đối với mẫu thuộc nhóm B (xem điều 1) làm theo 9.4.

Đối với mẫu thuộc nhóm A, chuyển phần mẫu thử vào phễu chiết (6.1) và đập bằng bông sạch không chứa chất béo. Làm theo 9.5.

9.4 Thủy phân

Chuyển phần mẫu thử vào cốc có mỏ dung tích 400 ml hoặc vào bình tam giác dung tích 300 ml. Thêm 100 ml axit clohydric (5.6) và vài tinh thể cacbua silic (5.4). Đậy cốc bằng mặt kính đồng hồ hoặc đậy

bình bằng nút nhám. Đem đun nhẹ trong 1 giờ. Cứ 10 phút khuấy nhẹ một lần để tránh hiện tượng đóng dính trên thành cốc hoặc bình.

Làm nguội ở nhiệt độ phòng và thêm một ít chất trợ lọc (5.7) đủ để tránh mất chất béo trong quá trình lọc. Lọc ướt, dùng giấy lọc kép không chứa chất béo lọc qua phễu Buchner có gắn máy hút. Rửa cặn bằng nước lạnh đến khi thu được dịch lọc trung tính.

Chú ý - Nếu xuất hiện dầu hoặc mỡ trên bề mặt phần lọc, có thể dẫn đến kết quả sai. Do vậy, phải lặp lại quy trình với phần mẫu nhỏ hơn hoặc dùng axit nồng độ cao hơn.

Cẩn thận lấy phễu lọc ra và cho giấy lọc kép cùng cặn thu được vào phễu chiết (6.1) và làm khô trong tủ sấy chân không (6.5) trong 60 phút ở 80°C. Lấy phễu ra và đập bằng nút bông không chứa chất béo.

9.5 Chiết

9.5.1 Cho vài tinh thể cacbua silic (5.4) vào bình khô và cân (m_5) chính xác đến 1 mg. Nếu sau đó còn kiểm tra chất lượng chất béo thì dùng bi thủy tinh thay cho tinh thể cacbua silic. Lắp bình vào bộ chiết để thu phần chiết xăng nhẹ.

Lắp phễu chiết vào bộ chiết (6.2) và tiến hành chiết bằng xăng nhẹ (5.3) trong 6 giờ. Điều chỉnh thiết bị đun nóng (6.3) vừa phải, nếu dùng loại chiết Soxhlet thì trong 1 giờ thực hiện ít nhất 10 lần chiết tuần hoàn, hoặc tốc độ chảy ít nhất là 5 giọt trong 1 giây (khoảng 10 ml/phút) nếu dùng thiết bị chiết tương tự.

9.5.2 Đun bình cho bay gần hết dung môi. Thêm vào bình 2 ml aceton (5.5), lắc đều và đun nóng nhẹ trên thiết bị đun nóng (6.3) để đuổi aceton. Đuổi hết những vết aceton cuối cùng. Làm khô cặn thu được trong $(10 \pm 0,1)$ phút trong tủ sấy (6.4) ở 103°C. Làm nguội trong bình hút ẩm (6.6) và cân (m_6) chính xác đến 0,1 mg.

Hoặc có thể áp dụng quá trình sau:

Làm bay hết dung môi. Làm khô cặn thu được trong bình trong 1,5 giờ trong tủ sấy chân không (6.5) ở 80°C. Để nguội trong bình hút ẩm (6.6) và cân (m_6) chính xác đến 0,1 mg.

10 Tính toán

10.1 Xác định khi có chiết sơ bộ (9.2)

Tính hàm lượng chất béo của mẫu thử w_1 (g/kg) theo công thức:

$$W_1 \left[\frac{10(m_2 - m_1)}{m_0} + \left(\frac{(m_6 - m_5)}{m_4} \times \frac{m_3}{m_0} \right) \right] \times f$$

trong đó

m_0 là khối lượng mẫu thử cân ở 9.2, tính bằng gam;

m_1 là khối lượng bình cùng tinh thể cacbua silic ở 9.2, tính bằng gam;

m_2 là khối lượng bình cùng tinh thể cacbua silic và phần khô thu được từ dịch chiết ở 9.2, tính bằng gam;

m_3 là khối lượng phần thu được từ dịch chiết đã làm khô ở 9.2, tính bằng gam;

m_4 là khối lượng phần mẫu thử ở 9.3, tính bằng gam;

m_5 là khối lượng bình cùng tinh thể cacbua silic ở 9.5, tính bằng gam;

m_6 là khối lượng bình cùng tinh thể cacbua silic phần khô thu được từ dịch chiết ở 9.5, tính bằng gam;

f là hệ số hiệu chỉnh đơn vị ($f = 1000 \text{ g/kg}$), tính bằng gam trên kilogram.

Biểu thị kết quả chính xác đến 1 g/kg.

10.2 Xác định khi không có chiết sơ bộ

Hàm lượng chất béo của mẫu thử, w_2 , (g/kg), được tính theo công thức:

$$W_2 = \frac{(m_6 - m_5)}{m_4} \times f$$

trong đó

m_4 là khối lượng phần mẫu thử ở 9.3, tính bằng gam;

m_5 là khối lượng bình cùng tinh thể cacbua silic ở 9.5, tính bằng gam;

m_6 là khối lượng bình cùng tinh thể cacbua silic và phần khô thu được từ dịch chiết ở 9.5, tính bằng gam;

f là hệ số hiệu chỉnh đơn vị ($f = 1000 \text{ g/kg}$), tính bằng gam trên kilogram.

Biểu thị kết quả chính xác đến 1 g/kg.

1 Độ chụm

1.1 Thử nghiệm ở liên phòng thí nghiệm

Những chi tiết thử nghiệm của những thử nghiệm liên phòng thí nghiệm về độ chụm của phương pháp được tóm tắt trong phụ lục A. Những giá trị này không áp dụng với những dải nồng độ và các thành phần khác với dải nồng độ và nhóm thành phần đã cho.

11.2 Độ lặp lại

Sự chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn độc lập, do cùng một kiểm nghiệm viên thực hiện khi áp dụng cùng một phương pháp, cùng thiết bị kiểm tra, cùng một phòng thí nghiệm ở một khoảng thời gian ngắn, sẽ không có trên 5% các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại r đã cho trong bảng 1.

Bảng 1 - Giới hạn lặp lại (r) và giới hạn tái lập (R)

| Mẫu | r (g/kg) | R (g/kg) |
|--|---------------|-------------------|
| Nhóm B (cần thủy phân) | 5,0 | 12,0 ^a |
| Nhóm A (không cần thủy phân) | 2,5 | 7,7 ^b |
| a Trừ bột cá và bột thịt; xem bảng A.1 | | |
| b Trừ bột dừa; xem bảng A.2. | | |

11.3 Độ tái lập

Sự chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn trên cùng một phương pháp, trên những mẫu thử giống hệt nhau trong các phòng thí nghiệm khác nhau do các kỹ thuật viên khác nhau tiến hành, sử dụng những thiết bị khác nhau sẽ không có trên 5% các trường hợp vượt quá giới hạn độ tái lập R đã cho trong bảng 1.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải thể hiện:

- toàn bộ thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã áp dụng;
- các thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tự chọn cùng với các chi tiết của bất kỳ yếu tố nào có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả kiểm nghiệm hoặc hai kết quả kiểm nghiệm có được nếu kiểm tra độ lặp lại.

Phụ lục A (tham khảo)

Kết quả thử nghiệm liên phòng thí nghiệm

Độ chụm của phương pháp được xác lập bởi các thí nghiệm của 3 phòng thí nghiệm do các tổ chức thành viên của Sec và Slovanhia cũ, Hà Lan và Pháp tổ chức năm 1984 và thực hiện theo ISO 5725 [5]¹.

Trong thí nghiệm ở Sec và Slovanhia cũ, có 21 phòng thí nghiệm tham gia. Các mẫu thí nghiệm gồm sữa bột nguyên, bột cá, thức ăn hỗn hợp cho gà broiler và thức ăn cho bò dạng viên.

Trong thí nghiệm ở Pháp, có 33 phòng thí nghiệm tham gia. Các mẫu thí nghiệm gồm dung dịch bia cô đặc, ngô, bột thịt, khô đậu tương và thức ăn cho gà tây.

Trong thí nghiệm ở Hà Lan, có 10 phòng thí nghiệm tham gia. Các mẫu thí nghiệm gồm lúa mạch, bột xương, bột dừa, bột lông vũ thức ăn có chứa gluten ngô và hai loại thức ăn hỗn hợp.

Xem Bảng A.1 và A.2 tóm tắt kết quả thống kê của các thử nghiệm

Chú thích - Những thông tin chi tiết được nêu trong ISO/TC 34/SC 10 N 353.

Bảng A.1 - Kết quả thống kê của thử nghiệm liên phòng thí nghiệm đối với mẫu thuộc nhóm B (cần thủy phân)

| Thông số | Mẫu ^a | | | | | | | | | | |
|--|------------------|----------------|------|------|------|------|------|----------------|----------------|-------|-------|
| | 1 | 2 ^b | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 ^b | 9 ^b | 10 | 11 |
| Số phòng thí nghiệm *) | 25 | 8 | 23 | 24 | 18 | 23 | 27 | 8 | 8 | 19 | 20 |
| Hàm lượng chất béo trung bình g/kg ^c | 23,4 | 40,2 | 44,7 | 55,0 | 78,0 | 80,9 | 88,4 | 101,3 | 150,6 | 188,0 | 251,0 |
| Độ lệch chuẩn lặp lại, s _r , g/kg | - | 0,78 | - | - | 1,73 | - | - | 1,20 | 1,73 | 1,24 | 1,84 |
| Hệ số biến động lặp lại, % | - | 1,98 | - | - | 2,23 | - | - | 1,20 | 1,13 | 0,67 | 0,74 |
| Giới hạn của độ lặp lại, r, (2,8 x s _r), g/kg | - | 2,2 | - | - | 4,9 | - | - | 3,4 | 4,9 | 3,5 | 5,2 |
| Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , g/kg | 4,03 | 1,98 | 2,57 | 4,38 | 5,55 | 2,97 | 5,69 | 1,80 | 3,32 | 2,65 | 3,39 |
| Hệ số biến động tái lập, % | 17,29 | 4,95 | 5,77 | 7,98 | 7,10 | 3,68 | 6,44 | 1,77 | 2,23 | 1,41 | 1,34 |
| Giới hạn tái lập, R, (2,8 x s _R), g/kg | 11,4 | 5,6 | 7,3 | 12,4 | 15,7 | 8,4 | 16,1 | 5,1 | 9,4 | 7,5 | 9,6 |
| a) Mẫu 1: khô đậu tương; Mẫu 2: thức ăn chăn nuôi chứa gluten ngô; Mẫu 3: ngô; Mẫu 4: dịch bia cô đặc; Mẫu 5: bột cá; Mẫu 6: thức ăn cho gà tây; Mẫu 7: bột thịt; Mẫu 8: bột lông vũ; Mẫu 9: bột xương; Mẫu 10: thức ăn viên cho bò; Mẫu 11: sữa bột nguyên. | | | | | | | | | | | |
| b) Kết quả biểu thị theo chất khô. c) Dung môi sử dụng: sản phẩm dầu mỡ nhẹ có nhiệt độ sôi từ 40°C đến 60°C. | | | | | | | | | | | |

1) ISO 5725 : 1986 (nay đã huỷ bỏ) được sử dụng để xác định độ chính xác của số liệu.

*) Số phòng thử nghiệm được chọn không tính đến phòng thử nghiệm đã bị loại.

**Bảng A.2 - Kết quả thống kê của thử nghiệm liên phòng thí nghiệm đối với mẫu thuộc nhóm A
(không cần thủy phân)**

| Thông số | Mẫu ^a | | | | | | | | | | | |
|---|------------------|----------------|--|------|------|--|------|------|------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 ^b | 3 ^b | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 b | 11 b | 12 |
| Số phòng thí nghiệm) | 31 | 10 | 10 | 30 | 29 | 21 | 30 | 21 | 28 | 10 | 10 | 19 |
| Hàm lượng chất béo trung bình g/kg ^c | 15,5 | 15,9 | 31,8 | 37,8 | 40,1 | 51,0 | 69,7 | 72,0 | 75,0 | 107,1 | 117,3 | 177,0 |
| Độ lệch chuẩn lặp lại, s _r , g/kg | - | 0,42 | 0,60 | - | - | 0,64 | - | 0,88 | - | 0,81 | 0,78 | 0,88 |
| Hệ số biến động lặp lại, % | - | 2,76 | 1,87 | - | - | 1,24 | - | 1,24 | - | 0,78 | 0,67 | 0,49 |
| Giới hạn lặp lại, r, (2,8 x s _r), g/kg | - | 1,2 | 1,7 | - | - | 1,8 | - | 2,5 | - | 2,3 | 2,2 | 2,5 |
| Độ lệch chuẩn tái lập, s _R , g/kg | 1,97 | 1,24 | 2,72 | 1,57 | 1,74 | 2,12 | 2,04 | 2,61 | 1,85 | 4,59 | 1,94 | 1,59 |
| Hệ số biến động tái lập, % | 12,73 | 7,84 | 8,62 | 4,17 | 4,35 | 4,17 | 2,94 | 3,64 | 2,47 | 4,28 | 1,66 | 0,88 |
| Giới hạn tái lập, R, (2,8 x s _R), g/kg | 5,6 | 3,5 | 7,7 | 4,4 | 4,9 | 6,0 | 5,8 | 7,4 | 5,2 | 13,0 | 5,5 | 4,5 |
| a) Mẫu 1: khô đậu tương; Mẫu 2: lúa mạch; Mẫu 3: thức ăn hỗn hợp; Mẫu 4: dịch bia cô đặc; Mẫu 5: ngô; Mẫu 6: thức ăn hỗn hợp cho gà broiler; | | | Mẫu 7: bột thịt; Mẫu 8: bột cá; Mẫu 9: thức ăn cho gà tây; Mẫu 10: khô dầu dừa; Mẫu 11: thức ăn hỗn hợp; Mẫu 12: thức ăn viên cho bò. | | | b) Kết quả biểu thị theo chất khô. c) Dung môi sử dụng: sản phẩm dầu mỏ nhẹ có nhiệt độ sôi từ 40°C đến 60°C. | | | | | | |
| *) Số phòng thử nghiệm được chọn, không tính phòng thử nghiệm đã bị loại. | | | | | | | | | | | | |