

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10132:2013

ISO 1854:2008

Xuất bản lần 1

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

*Whey cheese – Determination of fat content –
Gravimetric method (Reference method)*

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 10132:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 1854:2008;

TCVN 10132:2013 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 thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

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

*Whey cheese – 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 mọi 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 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 phomat whey.

Tiêu chuẩn này không áp dụng cho các sản phẩm không hòa tan hoàn toàn trong dung dịch amoniac hoặc các sản phẩm chứa lượng đáng kể axit béo tự do.

CHÚ THÍCH: Nếu phomat whey không hòa tan hoàn toàn trong dung dịch amoniac hoặc nếu chúng chứa lượng đáng kể axit béo tự do (ngoại trừ một số trường hợp, khi đó có thể nhận biết rõ qua sự khác biệt về mùi), kết quả của phép xác định sẽ rất thấp. Đối với các sản phẩm này, phương pháp sử dụng nguyên tắc Weibull-Berntrop là thích hợp [xem TCVN 6688-3 (ISO 8262-3) ^[3]].

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 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 10132:2013

TCVN 8488 (ISO 4788), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Ống đong chia độ*

TCVN 9966 (ISO 3889), *Sữa và sản phẩm sữa – Yêu cầu kỹ thuật đối với bình chiết chất béo kiểu Mojonier*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Hàm lượng chất béo của phomat whey (fat content of whey cheese)

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 biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

4 Nguyên tắc

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

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

5 Thuốc thử

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

Tất cả các thuốc thử chỉ được phép để lại lượng cặn không đáng kể khi thực hiện phép xác định theo phương pháp quy định (xem 9.2.2).

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

CHÚ THÍCH: Nếu không sẵn có dung dịch amoniac ở nồng độ này thì có thể sử dụng dung dịch đậm đặc hơn đã biết nồng độ.

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

5.3 Dung dịch đỏ Congo

Hòa tan 1 g đỏ Congo ($\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_6\text{S}_2$) vào nước đựng trong bình định mức một vạch 100 ml (6.14). Thêm nước đến vạch.

CHÚ THÍCH: Dung dịch này giúp quan sát rõ hơn lớp phân cách giữa dung môi và các lớp nước, việc sử dụng dung dịch này là tùy chọn (xem 9.4.4). Có thể sử dụng các dung dịch chỉ thị khác có dung môi là nước, với điều kiện không ảnh hưởng đến kết quả của phép xác định.

5.4 Diethyl ete ($C_2H_5OC_2H_5$), không chứa peroxit (xem A.3), có hàm lượng các chất chống oxy hóa không quá 2 mg/kg, 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 diethyl ete có thể dẫn đến các tình huống nguy hiểm. Cần tuân thủ các cảnh báo an toàn đối với việc thao tác, sử dụng và thải bỏ diethyl ete.

5.5 Dầu nhẹ, có dải sôi từ 30 °C đến 60 °C hoặc **pentan** [$CH_3(CH_2)_3CH_3$] có điểm sôi ở 36 °C và phù hợp với các yêu cầu đối với 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.

5.6 Dung môi hỗn hợp

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

6 Thiết bị, dụng cụ

CẢNH BÁO – Vì phép xác định buộc phải sử dụng các dung môi bay hơi dễ cháy, nên các 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 thông thường của phòng thử nghiệm và các thiết bị, dụng cụ sau:

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

6.2 Máy ly tâm, có thể ly tâm các bình hoặc ống chiết chất béo (6.6) và có thể quay được với tốc độ từ 500 r/min đến 600 r/min để tạo được gia tốc quay khoảng 80g đến 90g tại miệng của bình chiết hoặc ống chiết.

Việc sử dụng máy ly tâm là tùy chọn, nhưng khuyến cáo sử dụng 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 ra khỏi các bình nón hoặc bình đun sôi, hoặc để 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, được đốt nóng bằng điện, có cửa thông gió mở hoàn toàn, có thể duy trì được nhiệt độ ở $102\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ trong toàn khoang sấy.

Tủ phải được gắn với một nhiệt kế thích hợp.

6.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì nước ở điểm sôi.

6.6 Bình chiết chất béo kiểu Mojonnier, như quy định trong TCVN 9966 (ISO 3889).

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

TCVN 10132:2013

Các bình này phải được đậy bằng nút bần chất lượng tốt hoặc dùng nắp làm bằng vật liệu khác (ví dụ: cao su silicon hoặc polytetrafluoroetylen) không bị ảnh hưởng bởi thuốc thử được sử dụng. Nút bần được chiết bằng dietyl ete (5.4), được ngâm trong nước ở nhiệt độ 60 °C hoặc ở nhiệt độ lớn hơn trong ít nhất 15 min, sau đó được làm nguội trong nước sao cho chúng bão hòa nước khi được sử dụng.

6.7 Giá, để giữ bình (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, 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 bằng kim loại.

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

6.10 Hạt trợ sôi, không chứa chất béo, bằng sứ không xốp hoặc silic cacbua (tùy chọn trong trường hợp 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 các dụng cụ khác phù hợp với sản phẩm có liên quan.

6.12 Pipet chia vạch, 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 Thiết bị nghiền thích hợp.

6.15 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. Mẫu không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

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

8 Chuẩn bị mẫu thử

Sử dụng thiết bị thích hợp (6.14) để chuẩn bị mẫu thử. Trộn nhanh mẫu phomat đã nghiền hoặc đã xay và nghiền lần thứ hai, nếu cần. Trộn kỹ lại lần nữa. Làm sạch thiết bị sau mỗi lần chuẩn bị mẫu.

Nếu mẫu thử không thể nghiền hoặc xay thì trộn kỹ bằng cách nhào trộn mạnh ví dụ bằng cối và chày. Chú ý để thoát ẩm của mẫu trong quá trình nghiền hoặc xay càng ít càng tốt.

Bảo quản mẫu thử trong vật chứa kín khí cho đến khi phân tích, nên tiến hành phân tích ngay trong ngày chuẩn bị. Nếu chưa thể thực hiện phân tích được ngay thì phải chú ý bảo quản mẫu thử đúng cách. Nếu được bảo quản lạnh thì phải đảm bảo rằng tất cả ẩm ngưng tụ trên thành trong của vật chứa được kết hợp hết vào mẫu thử.

9 Cách tiến hành

CHÚ THÍCH 1: Nếu cần kiểm tra sự đáp ứng các yêu cầu về giới hạn độ lặp lại (11.2) thì thực hiện hai phép xác định đơn lẻ theo 9.1 đến 9.4.

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

9.1 Phân mẫu thử

Trộn mẫu thử (Điều 8) bằng cách khuấy trộn nhẹ hoặc bằng cách quay hoặc đảo chiều vật chứa mẫu vài lần. Cân ngay 3,000 g mẫu thử đã chuẩn bị, chính xác đến 1 mg, cho trực tiếp hoặc gián tiếp vào bình chiết chất béo (6.6).

Chuyển phần mẫu thử càng triệt để càng tốt sang bầu dưới (bầu nhỏ) 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 quy trình và dùng cùng một loại thuốc thử nhưng thay phần mẫu thử đã hòa tan nêu trong 9.4.1 bằng 10 ml nước (xem A.2).

Khi sử dụng một mẫu trắng cho một mẻ mẫu thử gồm các mẫu riêng không có cùng điều kiện giống hệt nhau, cần đảm bảo quy trình dùng để thu được giá trị trắng được sử dụng trong công thức tính kết quả hoàn toàn tương đương với quy trình thực hiện trên mẫu riêng.

Khi giá trị thu được trong phép thử trắng này vượt quá 1,0 mg thì kiểm tra thuốc thử nếu trước đó chưa được kiểm tra (9.2.2). Việc điều 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

Để kiểm tra chất lượng thuốc thử, tiến hành phép thử trắng theo 9.2.1. Ngoài ra, sử dụng một bình thu nhận chất béo rỗng, được chuẩn bị theo 9.3 cho mục đích kiểm soát khối lượng. Thuốc thử không được để lại dư lượng quá 1,0 mg (xem A.1).

TCVN 10132:2013

Nếu dư lượng của toàn bộ phép thử trắng thuốc thử vượt quá 1,0 mg thì xác định dư lượng của các dung môi riêng rẽ bằng cách chưng cất tương ứng 100 ml dietyl ete (5.4) và dầu nhẹ (5.5). Sử dụng một bình thu nhận chất béo rộng dùng cho mục đích kiểm soát như trong đoạn nêu trên để thu được khối lượng thực của dư lượng không vượt quá 1,0 mg.

Rất hiếm khi các dung môi có thể chứa các chất bay hơi bị giữ lại nhiều trong chất béo. Nếu có mặt các chất này thì tiến hành các phép thử trắng đối với tất cả thuốc thử và đối với mỗi dung môi, sử dụng một bình thu nhận chất béo cùng với khoảng 1 g butterfat khan. Nếu cần, chưng cất lại các dung môi với sự có mặt của 1 g butterfat khan cho mỗi 100 ml dung môi. Sử dụng các dung môi trong khoảng thời gian ngắn sau khi các dung môi này được chưng cất lại.

Thay thế các thuốc thử hoặc dung môi không thích hợp 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) duy trì ở 102 °C trong 1 h.

CHÚ THÍCH 1: Hạt 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 sử dụng trong trường hợp dùng đĩa kim loại.

Để bình thu nhận chất béo nguội đến nhiệt độ phòng cân, tránh bụi (bình bằng thủy tinh để ít nhất trong 1 h, đĩa kim loại 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 kẹp (6.13) đặt bình thu nhận chất béo lên cân. Cân bình chính xác đến 1 mg.

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

9.4 Phép xác định

9.4.1 Thực hiện phép xác định ngay sau khi chuẩn bị mẫu thử.

Thêm 10 ml nước đã được gia nhiệt trước ở nhiệt độ 65 °C ± 5 °C vào phần mẫu thử trong bình chiết chất béo (9.1) để thu được tổng thể tích từ 10 ml đến 11 ml. Dùng nước để rửa hết phần mẫu thử vào bầu nhỏ của bình chiết chất béo. Trộn kỹ với phần mẫu thử trong bầu nhỏ.

9.4.2 Làm nóng lượng chứa trong bình chiết chất béo trong nồi cách thủy đang sôi (6.5). Thành thạo lắc nhẹ cho đến khi phần mẫu thử phân tán hoàn toàn. Để yên bình chiết trong 20 min trên nồi cách thủy đang sôi. Sau đó làm nguội bình dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng.

9.4.3 Thêm 2 ml dung dịch amoniac (5.1) hoặc thể tích tương đương dung dịch amoniac đặc hơn (xem Chú thích tại 5.1) vào bình chiết chất béo. Trộn kỹ cùng với phần mẫu thử trong bầu nhỏ của bình chiết.

9.4.4 Thêm 10 ml etanol (5.2). Trộn kỹ bằng cách cho lượng chứa trong bình chiết chất béo chảy đi chảy lại nhẹ nhàng giữa bầu nhỏ và bầu lớn. Không để cho chất lỏng dâng lên quá gần cổ bình. Tốt nhất là thêm 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3). Làm nguội bình chiết dưới dòng nước chảy về nhiệt độ phòng, nếu cần.

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

Trong quá trình lắc, giữ bình nằm ngang với bầu nhỏ hướng lên trên, định kỳ cho chất lỏng trong bầu lớn chảy sang bầu nhỏ. Nếu cần, làm mát bình dưới dòng nước chảy về gần nhiệt độ phòng. Cẩn thận tháo nút, tráng nút và cổ bình chiết bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào bình chiết chất béo.

9.4.6 Thêm 25 ml dầu nhẹ (5.5). Đậy bình chiết bằng nút bần hoặc nút khác đã làm ướt lại bằng nước (ngâm trong nước). Lắc nhẹ bình chiết trong 30 s như mô tả trong 9.4.4. Thực hiện lắc bình như mô tả trong 9.4.5.

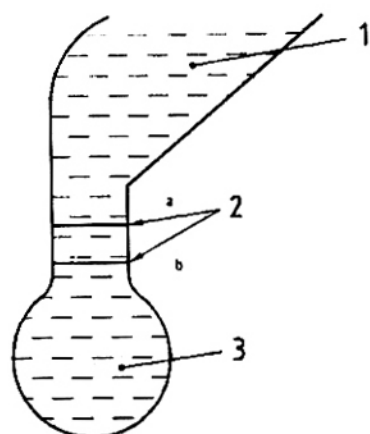
9.4.7 Cho ly tâm bình chiết chất béo đã đậy kín, tiến hành trong thời gian từ 1 min đến 5 min với gia tốc quay từ 80g đến 90g. Nếu không có máy ly tâm (6.2) thì đặt bình chiết đậy kín trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min cho đến khi có lớp nổi trên bề mặt rõ rệt và phân biệt rõ với lớp chất lỏng. Làm mát bình chiết dưới dòng nước chảy về nhiệt độ phòng, nếu cần.

9.4.8 Cẩn thận lấy nút ra, dùng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) để tráng nút và tráng phía trong cổ bình chiết chất béo. Dùng chai rửa (6.8) để tráng bình sao cho nước rửa chảy vào bình chiết. 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 có thể gạt dung môi dễ dàng.

CHÚ THÍCH: Trong Hình 1 và Hình 2 có mô tả một trong ba loại bình chiết chất béo được quy định trong TCVN 9966 (ISO 3889) đã được chọn, nhưng không có nghĩa là nó được ưu tiên hơn loại khác.

9.4.9 Giữ bình chiết chất béo tại bầu nhỏ, cẩn thận gạt được càng nhiều càng tốt lớp nổi trên bề mặt vào bình thu nhận chất béo đã được chuẩn bị (xem 9.3) có chứa vài hạt trợ sôi (6.10) trong trường hợp dùng bình nón hoặc bình đun sôi (đối với đĩa kim loại thì tùy chọn). Không gạt một chút chất lỏng nào vào bình (xem Hình 2).

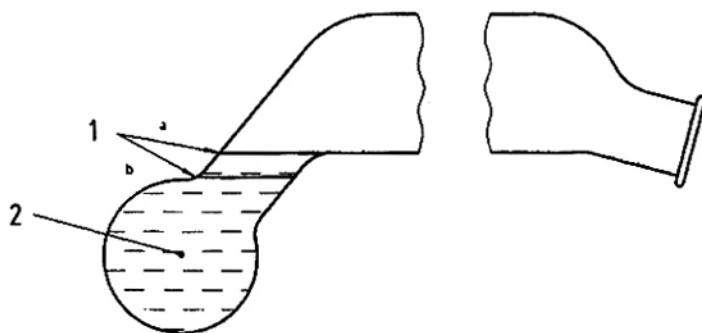
9.4.10 Tráng phía ngoài cổ bình chiết chất béo bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Thu lấy nước rửa vào bình thu nhận chất béo. Chú ý không để dung môi hỗn hợp tràn ra thành ngoài của bình chiết. Tốt nhất là loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình thu nhận chất béo bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như mô tả trong 9.4.14.



CHÚ DẪN

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

Hình 1 – Trước khi gạn



CHÚ DẪN

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

Hình 2 – Sau khi gạn

9.4.11 Thêm 5 ml etanol (5.2) vào lượng chứa trong bình chiết chất béo. Dùng etanol để tráng phía trong cổ bình và trộn theo mô tả trong 9.4.4.

9.4.12 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong 9.4.5 đến hết 9.4.9. Dùng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5) thay vì dùng các thể tích 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 chiết bằng cách nhẹ nhàng cho thêm nước theo thành bình (xem Hình 1) để có thể gạn được dung môi càng nhiều càng tốt (xem Hình 2).

9.4.13 Thực hiện chiết lần ba bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong 9.4.5 đến hết 9.4.9 nhưng không thêm etanol. 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 chiết bằng cách nhẹ nhàng cho thêm nước theo thành bình (xem Hình 1) để có thể gạn được dung môi càng nhiều càng tốt (xem Hình 2).

CHÚ THÍCH: Có thể bỏ qua lần chiết thứ ba đối với các sản phẩm có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 3 % khối lượng.

9.4.14 Loại bỏ các dung môi (kể cả etanol) khỏi bình thu nhận chất béo càng triệt để càng tốt bằng cách chưng cất nếu dùng bình nón hoặc bình đun sôi, hoặc bằng cách làm bay hơi nếu sử dụng cốc có mỏ hoặc đĩa (6.3). Tráng thành trong của cốc bình nón hoặc bình đun sôi bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) trước khi bắt đầu chưng cất.

9.4.15 Sấy bình thu nhận chất béo 1 h trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C, đặt nghiêng bình nón hoặc bình đun sôi trong tủ sấy để dung môi thoát ra dễ hơn. 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 chất béo bị coi là có tạp chất và phải lặp lại toàn bộ quy trình. Nếu chất béo trong thì bảo quản bình thu nhận chất béo khô bụi và để nguội bình (không để trong bình hút ẩm) đến nhiệt độ phòng cân (đối với bình thu nhận chất béo bằng thủy tinh để tối thiểu 1 h còn đối với đĩa kim loại để tối thiểu 30 min).

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

9.4.16 Sấy bình thu nhận chất béo 30 min trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C, đặt nghiêng bình nón hoặc bình đun sôi trong tủ sấy để dung môi thoát ra dễ hơn. Để nguội và cân lại theo 9.4.15. Nếu cần, lặp lại các quy trình sấy 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 Tính kết quả

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

$$w_f = \frac{(m_1 - m_2) - (m_3 - m_4)}{m_0} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó:

- m_0 là khối lượng phần mẫu thử (9.1), tính bằng gam (g);
- m_1 là khối lượng bình thu nhận chất béo cùng với chất chiết được, xác định được trong 9.4.16, tính bằng gam (g);
- m_2 là khối lượng bình thu nhận chất béo đã chuẩn bị (9.3), tính bằng gam (g);
- m_3 là khối lượng bình thu nhận chất béo sử dụng trong phép thử trắng (9.2) và bất kì chất chiết nào xác định được trong 9.4.16, tính bằng gam (g);
- m_4 là khối lượng 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 theo ISO 5725:1986 ¹⁾ (xem Tài liệu tham khảo [2]) về độ chụm của phương pháp được nêu trong Tài liệu tham khảo [4].

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

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên cùng một loại vật liệu thử, trong cùng phòng thử nghiệm, do cùng một người phân tích và sử dụng cùng một thiết bị trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,2 % phần khối lượng chất béo.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, đơn lẻ, thu được khi tiến hành trên cùng một loại vật liệu thử, do những người 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 0,3 % phần khối lượng chất béo.

12 Báo cáo thử nghiệm

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

- a) mọi thông tin cần thiết về 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 phương pháp này cho giá trị lớn hơn 2,5 mg đối với phép thử trắng;
- f) kết quả thử nghiệm thu được hoặc kết quả cuối cùng nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại.

¹⁾ ISO 5725:1986 (đã hủy) được dùng để thu các dữ liệu về độ chụm. Tiêu chuẩn này đã được thay thế bằng bộ tiêu chuẩn ISO 5725 (gồm 6 phần) và đã được chấp nhận thành bộ TCVN 6910 (ISO 5725).

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 (6.9) dùng để kiểm soát 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 thu nhận chất béo này có thể được dùng như bình đối trọng nếu dùng cân hai đĩa. Mặt khác, chênh lệch khối lượng biểu kiến $[(m_3 - m_4)$ trong 10.1] của bình thu nhận chất béo dùng để kiểm soát phải được xem xét khi kiểm tra khối lượng 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 dùng để kiểm soát, được điều chỉnh theo sự thay đổi khối lượng biểu kiến của bình thu nhận chất béo cho mục đích kiểm soát, không được tăng quá 1,0 mg.

Rất hiếm khi các dung môi có chứa chất bay hơi bị giữ lại nhiều trong chất béo. Nếu thấy sự có mặt của các chất như thế thì cần tiến hành phép thử trắng đối với tất cả các thuốc thử và từng dung môi, 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. Sử dụng các dung môi này trong khoảng thời gian ngắn sau khi chưng cất lại.

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

Giá trị thu được trong phép thử trắng, tiến hành đồng thời với phép xác định, cho phép khối lượng biểu kiến của các chất chiết được từ phần mẫu thử ($m_1 - m_2$) được điều chỉnh theo sự có mặt của chất không bay hơi chiết được từ thuốc thử cũng như bất kỳ 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 (9.4.16 và 9.3).

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

TCVN 10132:2013

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 không tinh khiết thì cần phải thay mới hoặc tinh sạch lại (xem 9.2.2 và A.1).

A.3 Phép thử đối với peroxit

Để thử các 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 trước đó đã được tráng bằng ete. Lắc ống đong rồi để yên trong 1 min. Không quan sát thấy màu vàng trong lớp dietyl ete.

Có thể sử dụng các phương pháp thích hợp khác để thử peroxit.

Để đảm bảo cho dietyl ete không chứa peroxit và không bị nhiễm peroxit, cần xử lý dietyl 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 dietyl ete, dùng khoảng 8 000 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 (CuSO₄·5H₂O) và 2 ml axit sulfuric (98 % khối lượng) đậm đặc trên lít. Rửa kỹ các dải này nhẹ nhàng bằng nước rồi để các dải đã mạ đồng còn ướt này vào trong chai đựng dietyl ete.

Có thể sử dụng các phương pháp khác với điều kiện là không ảnh hưởng đến kết quả xác định.

A.4 Dietyl ete có chứa chất chống oxi hoá

Dietyl ete có chứa chất chống oxi hoá với hàm lượng khoảng 1 mg/kg có bán 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 dietyl ete chứa hàm lượng chất chống oxi hoá cao hơn, ví dụ: đến 7 mg/kg. Những dietyl ete như thế chỉ nên sử dụng đối với các phép xác định thường xuyên 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 chứng, loại dietyl ete này luôn phải chưng cất trước khi sử dụng.

A.5 Etanol

Có thể sử dụng etanol đã bị metanol làm biến tính với điều kiện là metanol 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 Yêu cầu chung

Nếu sử dụng ống chiết chất béo (6.6) có nối với si phong hoặc chai rửa thay cho bình chiết chất béo thì tiến hành theo 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 chất béo theo 6.6 (xem ví dụ ở Hình B.1).

B.2 Cách tiến hành

B.2.1 Chuẩn bị mẫu thử

Xem Điều 8.

B.2.2 Phần mẫu thử

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

Phần mẫu thử này phải chuyển được 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

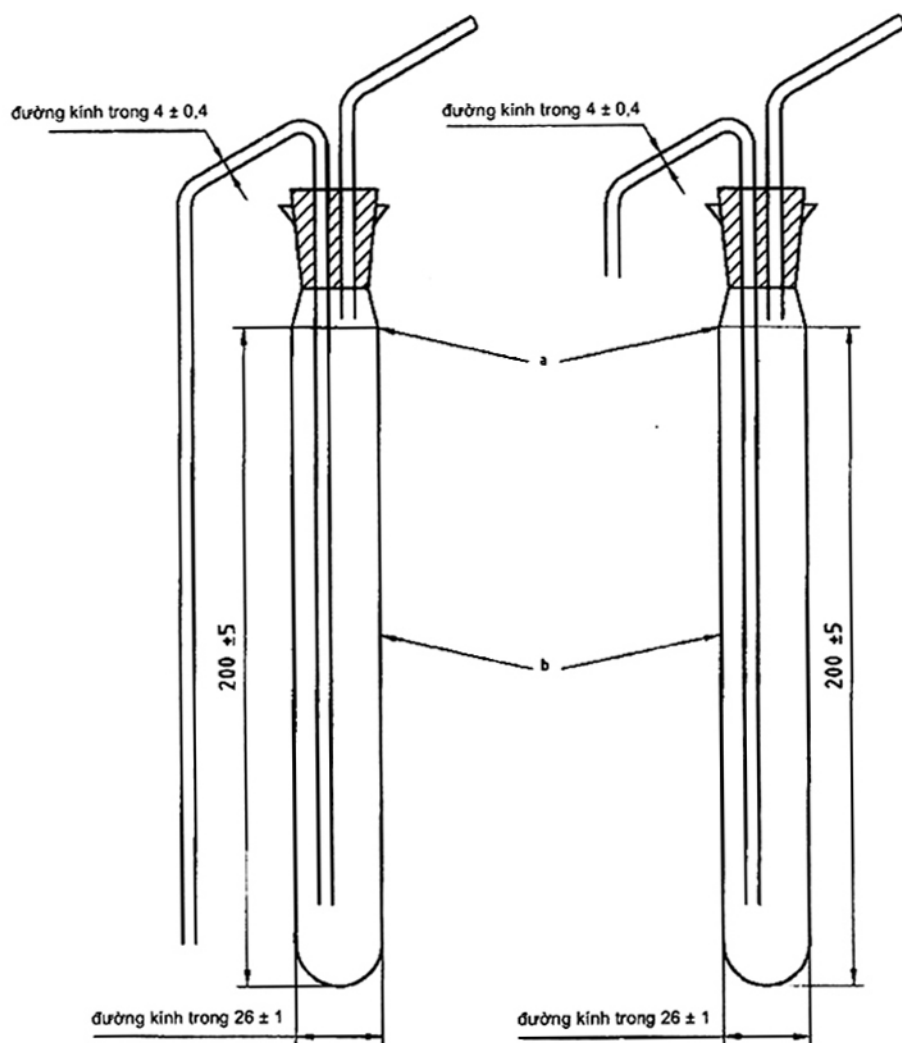
Xem 9.3.

B.2.5 Xác định

B.2.5.1 Tiến hành xác định ngay.

Thêm 10 ml nước đã làm nóng trước ở nhiệt độ khoảng 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 trên đáy ống chiết chất béo. Trộn kỹ.

B.2.5.2 Làm nóng lượng chứa trong ống trong nồi cách thủy đang sôi (6.5). Thỉnh thoảng lắc nhẹ đến khi phomat phân tán hoàn toàn. Để yên ống 20 min trong nồi cách thủy đang sôi.



a) có gắn ống si phông

b) có gắn bình rửa

CHÚ DẪN

- ^a Dung dịch khí tháo ống nối 105 ml ± 5 ml.
- ^b Độ dày của thành 1,5 mm ± 0,5 mm.

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

B.2.5.3 Thêm 2 ml dung dịch amoniac (5.1) hoặc thể tích tương đương dung dịch amoniac đậm đặc hơn (xem Chú thích trong 5.1) vào ống chiết chất béo. Trộn kỹ với phần mẫu thử đã xử lý ở đáy ống.

B.2.5.4 Thêm 10 ml etanol (5.2). Trộn kỹ một cách nhẹ nhàng đáy ống chiết chất béo. Nên bổ sung 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

B.2.5.5 Thêm 25 ml dietyl ete (5.4). Đậy ống chiết bằng nút bần đã bão hoà nước hoặc đậy bằng nút làm bằng chất liệu khác đã được làm ướt bằng nước (6.6). Lắc mạnh ống trong vòng 1 min nhưng không lắc quá mạnh để tránh tạo nhũ bền. Nếu cần, làm mát ống dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng. Cần thận tháo nút ống, tráng nút và cổ ống chiết bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng 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 nút khác đã làm ướt lại bằng nước (ngâm trong nước). Lắc bình chiết nhẹ nhàng trong 30 s như mô tả trong B.2.5.5.

B.2.5.7 Cho ly tâm ống chiết chất béo đã đậy kín từ 1 min đến 5 min ở gia tốc quay từ 80g đến 90g. Nếu không có máy ly tâm thì đặt ống đậy kín trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min cho đến khi thấy có lớp nổi trên bề mặt rõ rệt và phân biệt rõ với lớp nước. Nếu cần, làm mát ống dưới dòng nước chảy về nhiệt độ phòng.

B.2.5.8 Cần thận lấy nút ra, dùng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) để tráng nút và tráng cổ ống chiết chất béo. Dùng chai rửa (6.8) sao cho nước rửa chảy vào ống.

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

Cần 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 sử dụng bình nón hoặc bình đun sôi (còn đối với đĩa kim loại thì tùy chọn). Không để lớp chất nước lẫn vào. Tráng phía ngoài ống nổi bằng một ít dung môi hỗn hợp, thu lấy nước rửa vào bình thu nhận chất béo.

CHÚ THÍCH: Có thể gạt lớp nổi trên bề mặt ống chiết chất béo bằng bầu cao su gắn với ống ngắn để tạo áp lực.

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

Tráng rửa lại ống nổi bằng một ít dung môi hỗn hợp, cho nước rửa vào bình thu nhận chất béo. Loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình thu nhận chất béo bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như trong 9.4.14, khi cần.

B.2.5.11 Lại tháo ống nổi khỏi cổ của ống chiết chất béo. Nâng nhẹ ống nổi và thêm 5 ml etanol vào lượng chứa trong ống chiết chất béo. Dùng etanol để tráng thành bên trong ống nổi. Trộn theo mô tả trong B.2.5.4.

TCVN 10132:2013

B.2.5.12 Thực hiện chiết lần thứ hai bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong B.2.5.5 đến B.2.5.10. nhưng thay 25 ml bằng 15 ml dietyl ete (5.4) và 15 ml dầu nhẹ (5.5). Dùng dietyl ete để tráng thành trong của ống nối trong suốt quá trình tháo ống nối ra khỏi ống chiết chất béo sau lần chiết lần trước.

B.2.5.13 Thực hiện chiết lần thứ ba, bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong B.2.5.5 đến B.2.5.10 nhưng không thêm etanol, chỉ dùng 15 ml dietyl ete và 15 ml dầu nhẹ. Sử dụng dietyl ete để tráng thành trong của ống nối như mô tả trong B.2.5.12.

CHÚ THÍCH: Có thể bỏ qua cần chiết thứ ba đối với phomat có hàm lượng chất béo nhỏ hơn 3 % khối lượng.

B.2.5.14 Tiến hành tiếp theo như mô tả 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 6688-3 (ISO 8262-3), *Sản phẩm sữa và thực phẩm từ sữa – Xác định hàm lượng chất béo bằng phương pháp khối lượng Weibull – Berntrup (Phương pháp chuẩn) – Phần 3: Các trường hợp đặc biệt*
 - [4] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Interlaboratory collaborative studies, Second series. *Bull. Int. Dairy Fed.* 1988, (235)
-