

TCVN 6833 : 2001

ISO 7208 : 1999

**SỮA GẦY, WHEY VÀ BUTTERMILK – XÁC ĐỊNH HÀM
LƯỢNG CHẤT BÉO – PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG
(PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

*Skimmed milk, whey and buttermilk – Determination of fat content –
Gravimetric method (Reference method)*

Lời nói đầu

TCVN 6833 : 2001 hoàn toàn tương đương với ISO 7208 : 1999;

TCVN 6833 : 2001 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, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Sữa gầy, whey và buttermilk – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (phương pháp chuẩn)

Skimmed milk, whey and buttermilk – Determination of fat content – Gravimetric method (reference method)

Cảnh báo – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các chất liệu, thiết bị và các thao tác nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đề cập đến các vấn đề an toàn khi 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 trong sữa gầy, whey và buttermilk dạng lỏng. Đây là phương pháp khối lượng đặc biệt chính xác dùng để thiết lập các thao tác hiệu quả các bộ tách kem.

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp chuẩn để lập các bảng hiệu chỉnh cho các qui trình sử dụng butyrometer đối với sữa gầy.

Chú thích – Khi phép xác định không yêu cầu đến độ chính xác cao thì có thể sử dụng phương pháp qui định trong TCVN 6508 : 1999 (ISO 1211).

2 Tiêu chuẩn viện dẫn

ISO 3889 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 áp dụng thuật ngữ và định nghĩa sau đây :

3.1 Hàm lượng chất béo của sữa gầy, whey và buttermilk : 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 biểu thị bằng phần trăm khối lượng [(% (m/m))].

4 Nguyên tắc

Phần mẫu thử trong dung dịch etanol và amoniac được chiết 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 loại tinh khiết phân tích, trừ khi có qui định khác và sử dụng nước cất hoặc nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

Khi thực hiện phương pháp thử này, các thuốc thử không được để lại lượng cặn đáng kể (xem 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 cao hơn đã biết (xem 9.4.2).

5.2 Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), hoặc etanol đã bị metanol làm biến tính, chứa ít nhất 94% (V/V) etanol. (Xem A.5).

5.3 Dung dịch đỏ Congo

Hoà tan vào nước 1 g đỏ Congo 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 nhằm phân biệt rõ ranh giới giữa dung môi và lớp nước là tùy chọn (xem 9.4.3).

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), chứa không quá 2 mg/kg chất chống oxi hoá và thoả mãn các yêu cầu đối với thử mẫu trắng (xem 9.2.2, A.1 và A.4).

Chú thích – Việc sử dụng ete dietyl có thể dẫn đến tình huống nguy hiểm. 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 loại tương đương như pentan ($\text{CH}_3[\text{CH}_2]_3\text{CH}_3$) có điểm sôi ở 36°C và thoả mãn các yêu cầu khi thử mẫu trắng (xem 9.2.2, A.1 và A.4).

Chú thích – Nên sử dụng pentan vì có độ sạch 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, 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 thí nghiệm thông thường và đặc biệt như sau:

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

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

Chú thích – Nên sử dụng máy li tâm nhưng không bắt buộc (xem 9.4.6).

6.3 Thiết bị chưng cất hoặc làm bay hơi, để chưng cất các dung môi và etanol ra khỏi các bình nón hoặc làm bay hơi khỏi các cốc và đĩa (xem 9.4.13) ở nhiệt độ không vượt quá 100°C.

6.4 Tủ sấy, được đốt nóng bằng điện, có cửa mở thông gió hoàn toàn, có thể duy trì nhiệt độ ở $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong khắp buồng làm việc.

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

Chú thích – Cũng có thể dùng ống nghiệm chiết chất béo, nối với siphông hoặc nối với chai rửa, nhưng qui trình này có khác. Qui trình khác được đưa ra trong phụ lục B.

Các bình chiết chất béo phải có nút bần chất lượng tốt hoặc có nắp đậy làm bằng vật liệu khác [(thí dụ như cao su silicon hoặc polytetrafluoroetylen (PTFE)] không bị ảnh hưởng bởi thuốc thử được sử dụng. Nút bần phải được chiết bằng ete dietyl (5.4), giữ trong nước ít nhất là 15 min ở nhiệt độ 60°C hoặc lớn hơn, và sau đó làm nguội trong nước sao cho chúng bão hoà nước khi sử dụng.

6.7 Giá để giữ bình (hoặc ống) chiết chất béo (xem 6.6).

6.8 Chai rửa, thích hợp để dùng với dung môi hỗn hợp (5.6).

Không dùng chai rửa bằng chất dẻo.

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

Nếu sử dụng đĩa kim loại, tốt nhất là làm bằng thép không gỉ, đáy phẳng, có rãnh rót, 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 (không bắt buộc trong trường hợp dùng đĩa kim loại).

6.11 Ống đồng, dung tích 5 ml và 25 ml, hoặc dụng cụ khác thích hợp đối với sản phẩm liên quan.

6.12 Pipet chia độ, dung tích 10 ml.

6.13 Bộ kẹp, làm bằng kim loại thích hợp để giữ bình, giữ 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 : 1998 (ISO 707).

Điều quan trọng là phòng thí nghiệm nhận được đúng mẫu đại diện và mẫu không bị hư hỏng hoặc bị thay đổi chất lượng trong suốt quá trình vận chuyển và bảo quản.

Mẫu sau khi lấy xong được bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 6°C .

8 Chuẩn bị mẫu thử

Làm ấm mẫu thử ở nhiệt độ từ 35 °C đến 40 °C trên nồi cách thủy (6.5), nếu cần. Lắc kỹ mẫu một cách nhẹ nhàng, bằng cách đảo chiều chai đựng mẫu tránh tạo bọt hoặc tạo kem, và làm nguội nhanh đến khoảng 20°C.

Chú thích – Giá trị thực của hàm lượng chất béo sẽ không thu được khi :

- a) sữa đã đánh kem;
- b) có thể cảm nhận được mùi đặc trưng của 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 – Trong phép xác định này, hai phần mẫu thử (9.1) được chiết trong hai bình chiết chất béo kiểu Mojonnier (6.6). Các dịch chiết của hai bình được gộp vào một bình thu nhận chất béo đã chuẩn bị (9.3).

Chú thích 2 – Nếu cần phải kiểm tra sự thoả mãn giới hạn về độ lặp lại (11.2), thì thực hiện hai phép thử độc lập theo 9.1 đến 9.4.

Chú thích 3 – Một qui trình khác sử dụng ống chiết chất béo nối với siphông 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 và cho ngay vào hai bình chiết chất béo (6.6), mỗi bình từ 10 g đến 11 g mẫu thử chính xác đến 1 mg.

Chuyển toàn bộ phần mẫu thử sang bầu thấp (nhỏ) của bình chiết chất béo.

9.2 Thử mẫu trắng

9.2.1 Thử mẫu trắng để kiểm tra phương pháp

Tiến hành thử mẫu trắng đồng thời với việc xác định, sử dụng cùng qui trình và dùng cùng một loại thuốc thử, nhưng thay phần mẫu thử bằng 10 ml nước (xem A.2).

Nếu giá trị thu được trong thử trắng thường vượt quá 1,0 mg, thì kiểm tra lại thuốc thử nếu trước đó chưa thực hiện (9.2.2). Khi điều chỉnh cho giá trị lớn hơn 2,5 mg thì phải nêu trong phần báo cáo kết quả.

9.2.2 Thử trắng để kiểm tra thuốc thử

Để kiểm tra chất lượng của thuốc thử, tiến hành thử trắng như qui định trong 9.2.1. Dùng thêm một bình thu nhận chất béo không chứa mẫu, được chuẩn bị như qui định trong 9.3 cho mục đích kiểm tra khối lượng. Thuốc thử không được để lại lượng cặn lớn hơn 1,0 mg (xem A.1).

Nếu lượng cặn của phép thử trắng đối với thuốc thử lớn hơn 1,0 mg, thì xác định riêng rẽ lượng cặn của các dung môi bằng cách chưng cất 100 ml ete dietyl và xăng nhẹ. Dùng bình thu nhận chất béo không chứa mẫu cho mục đích kiểm tra như mô tả ở trên, để nhận được khối lượng thực của cặn mà không vượt 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 thử mẫu 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 1 g butterfat khan trong 100 ml dung môi. Chỉ dùng các dung môi này trong khoảng thời gian ngắn sau khi chưng cất lại.

Thay các thuốc thử và dung môi không thoả mãn yêu cầu hoặc chưng cất lại dung môi.

9.3 Chuẩn bị bình thu nhận chất béo

Sấy khô bình (6.9) cùng vài hạt trợ sôi (6.10) khoảng 1 h trong tủ sấy (6.4) ở 102°C.

Chú thích 1 – Chất trợ sôi là để giúp cho sôi nhẹ trong suốt quá trình loại bỏ các dung môi, đặc biệt là khi sử dụng các bình thu nhận chất béo bằng thủy tinh; không bắt buộc phải dùng trong trường hợp đĩa kim loại.

Bảo vệ các bình thu nhận chất béo khỏi bụi và làm nguội đến nhiệt độ phòng cân (bình thủy tinh để ít nhất 1 h, đĩa kim loại ít nhất 30 min).

Chú thích 2 – Không nên đặt bình thu nhận chất béo trong tủ hút ẩm, tránh để không đủ nguội hoặc thời gian làm nguội quá lâu.

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

Chú thích 3 – Nên sử dụng kẹp, đặc biệt là để tránh làm thay đổi nhiệt độ.

9.4 Xác định

9.4.1 Thực hiện ngay phép xác định.

Thực hiện các thao tác qui định trong 9.4.2 đến 9.4.13 trên cả hai phần mẫu thử đã xử lý sơ bộ (9.1).

9.4.2 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 hai phần mẫu thử trong các bình chiết chất béo (9.1). Trộn kỹ phần mẫu thử trong bầu nhỏ của từng bình chiết chất béo.

9.4.3 Thêm 10 ml etanol (5.2). Lắc kỹ nhẹ nhàng bằng cách cho lượng chứa trong bình chảy đi chảy lại giữa bầu lớn và bầu nhỏ. Không để cho chất lỏng đến quá gần cổ bình. Tốt nhất là nên cho thêm hai giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

9.4.4 Thêm 25 ml ete dietyl (5.4). Đậy cả hai bình chiết chất béo 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 min nhưng không lắc quá mạnh để tránh tạo nhũ.

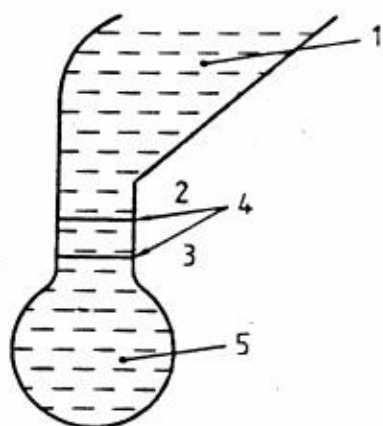
Trong khi lắc, giữ bình ở tư thế nằm ngang và bầu nhỏ hướng lên trên, cho chất lỏng trong bầu lớn chảy sang bầu nhỏ một cách định kì. Nếu cần, làm mát bình dưới dòng nước chảy đến nhiệt độ phòng. Mở nút một cách cẩn thận, tráng nút và cổ bình bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) để cho nước rửa chảy vào bình.

9.4.5 Thêm 25 ml xăng nhẹ (5.5). Đậy bình bằng nút bần hoặc nút khác đã thấm lại nước (bằng cách ngâm vào trong nước). Lắc bình nhẹ nhàng trong vòng 30 s như mô tả trong 9.4.3. Tiếp theo, lắc như mô tả trong 9.4.4.

9.4.6 Li tâm hai bình chiết chất béo đã đậy nút từ 1 min đến 5 min ở 80 g đến 90 g. Nếu không có máy li tâm, đặt bình 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 chất lỏng. Nếu cần, làm mát bình này dưới dòng nước chảy.

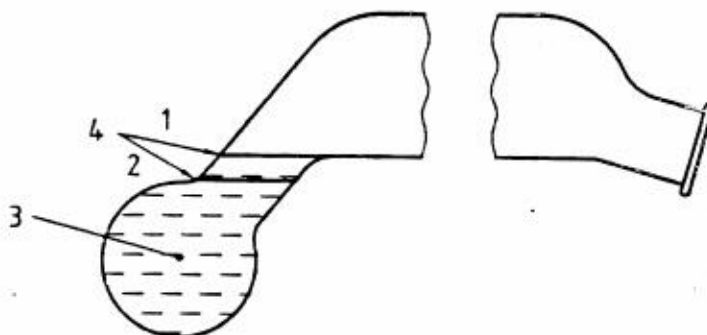
9.4.7 Cẩn thận tháo nút, tráng nút và phía trong cổ của cả hai bình bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) để cho nước rửa chảy vào bình. Nếu mặt lớp phân cách thấp hơn cổ của một bình hoặc cả hai bình, thì nâng cao lên một chút bằng cách nhẹ nhàng cho thêm nước theo thành bình (xem hình 1) để dung môi cạn được dễ dàng.

Chú thích – Trên hình 1 và 2 mô tả một trong ba loại bình chiết chất béo theo qui định trong ISO 3889 đã được chọn, nhưng điều này không có nghĩa là nó được ưu tiên hơn loại khác.



- 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



- 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

9.4.8 Giữ cả hai bình chiết chất béo tại bầu nhỏ, cẩn thận gạn được càng nhiều càng tốt lớp nổi trên bề mặt vào cùng một bình nhận chất béo (xem 9.3) có chứa một ít chất trợ sôi (6.10) trong trường hợp bình đun sôi hoặc bình nún (còn đối với đĩa kim loại thì tùy chọn). Không gạn bất kì một tí chất lỏng nào vào bình (xem hình 2).

9.4.9 Tráng phía ngoài cổ của cả hai bình chiết chất béo bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Thu lấy nước tráng của cả hai bình cho vào cùng một bình nhận chất béo trong 9.4.8. Chú ý không để dung môi hỗn hợp tràn ra thành ngoài của bình chiết. Nếu cần, có thể loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình nhận bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như mô tả trong 9.4.13.

9.4.10 Thêm 5 ml etanol (5.2) vào cả hai bình chiết chất béo. Dùng etanol để tráng thành trong cổ bình và trộn như mô tả trong 9.4.3.

9.4.11 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong 9.4.4 đến hết 9.4.9. Thay cho 25 ml chỉ dùng 15 ml ete dietyl (5.4) và 15 ml xăng nhẹ (5.5). Dùng ete dietyl để tráng thành trong cổ của cả hai bình chiết.

Nếu cần, nâng nhẹ lớp phân cách đến giữa cổ của một hoặc cả hai bình bằng cách thêm nước dọc theo thành bình (xem hình 1) để có thể gạn dung môi càng nhiều càng tốt (xem hình 2).

9.4.12 Thực hiện chiết lần ba, không cho thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong 9.4.4 đến hết 9.4.9. Lặp lại thao tác, nhưng chỉ dùng 15 ml ete dietyl (5.4) và 15 ml xăng nhẹ (5.5). Dùng ete dietyl để tráng lại phía trong cổ cả hai bình chiết chất béo.

Nếu cần, nâng nhẹ mặt lớp phân cách đến giữa cổ của một hoặc cả hai bình bằng cách thêm nước dọc theo thành bình (xem hình 1) để có thể gạn dung môi càng nhiều càng tốt (xem hình 2).

9.4.13 Loại bỏ các dung môi (kể cả etanol) càng nhiều càng tốt khỏi bình thu nhận chất béo, bằng cách chưng cất nếu sử dụng bình đun sôi hoặc bình nón, hoặc bằng cách cho bay hơi nếu sử dụng cốc có mỏ hoặc đĩa (xem 6.3). Tráng phía trong cổ bình đun sôi hoặc bình nón bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6) trước khi bắt đầu chưng cất.

9.4.14 Làm nóng bình thu nhận chất béo với bình đun sôi hoặc bình nón 1 h trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C, đặt bình nằm nghiêng để hơi dung môi thoát ra được. Lấy bình thu nhận chất béo ra khỏi tủ sấy và kiểm tra chất béo thu được đã trong hay chưa. Nếu chất béo không trong, chứng tỏ có mặt tạp chất trong chất béo và phải lập lại toàn bộ qui trình. Nếu chất béo trong, bảo vệ bình thu nhận chất béo khỏi bụi và để nguội bình (không nên để trong bình hút ẩm) tới nhiệt độ phòng cân (đối với bình thủy tinh tối thiểu 1 h, đĩa kim loại tối thiểu 30 min).

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

9.4.15 Làm nóng bình thu nhận chất béo với bình đun sôi hoặc bình nón 30 min trong tủ sấy (6.4) ở nhiệt độ 102 °C, đặt bình nằm nghiêng để hơi dung môi thoát ra được. Để nguội và cân lại theo mô tả trong 9.4.14. Nếu cần, lập lại qui trình làm nóng và qui trình sấy cho đến khi khối lượng của bình thu nhận chất béo giảm khoảng 1,0 mg hoặc ít hơn, hoặc tăng giữa hai lần cân liên tục. Ghi khối lượng tối thiểu là khối lượng của bình thu nhận chất béo và của chất chiết được.

10 Tính toán và biểu thị kết quả

10.1 Tính toán

Tính hàm lượng chất béo của mẫu theo công thức :

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

trong đó

w_f là phần khối lượng chất béo có trong mẫu, tính bằng phần trăm;

m_0 là tổng khối lượng của hai 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 trong 9.4.15, 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 được dùng trong thử mẫu trắng (9.2) và chất chiết xác định được trong 9.4.15, tính bằng gam;

m_4 là khối lượng của bình thu nhận chất béo (9.3) được dùng trong thử mẫu trắng (9.2), tính bằng gam.

10.2 Biểu thị kết quả

Làm tròn kết quả đến chữ số thứ ba sau dấu phẩy.

11 Độ chính xác

11.1 Thử liên phòng thí nghiệm

Các chi tiết thử liên phòng thí nghiệm về độ chính xác của các phương pháp đã được ban hành phù hợp với TCVN 4550 – 88 (ISO 5725) (xem tài liệu tham khảo [6]).

Giá trị về giới hạn độ lặp lại và độ tái lập được biểu thị ở 95% mức tin cậy và có thể không áp dụng cho các khoảng nồng độ và matrix khác với giá trị đã nêu.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ, dùng cùng một phương pháp trên cùng một nguyên liệu thử, do cùng một người phân tích trong một phòng thí nghiệm trong một khoảng thời gian ngắn, lớn hơn 0,005% phần khối lượng không vượt quá 5% các trường hợp.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ, sử dụng cùng một phương pháp trên cùng một nguyên liệu thử, do các nhà phân tích khác nhau sử dụng các thiết bị giống nhau, thực hiện trong các phòng thí nghiệm khác nhau trong khoảng thời gian ngắn, lớn hơn 0,015% phần khối lượng không vượt quá 5% các trường hợp.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ :

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ 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 chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn, cùng với mọi chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- việc hiệu chuẩn đã thực hiện, nếu giá trị thu được trong thử mẫu trắng để kiểm tra phương pháp vượt quá 2,5 mg.
- kết quả thử nghiệm thu được; hoặc
- nếu độ lặp lại được kiểm tra, nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(tham khảo)

Các chú ý về cách tiến hành

A.1 Thử mẫu trắng để kiểm tra thuốc thử (xem 9.2.2)

Trong trường hợp thử mẫu trắng, sử dụng bình thu nhận chất béo dùng cho mục đích kiểm tra khối lượng để 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 10.1) của bình thu nhận chất béo dùng cho mục đích kiểm tra, cần được xem xét khi kiểm tra khối lượng của bình thu nhận chất béo dùng để thử mẫu trắng. Do đó, chênh lệch khối lượng biểu kiến của bình thu nhận chất béo, được hiệu chỉnh cho thay đổi khối lượng biểu kiến của bình thu nhận chất béo dùng cho mục đích 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 thử mẫu 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 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 thử mẫu 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, có khối lượng biểu kiến của các chất chiết được từ phần mẫu thử ($m_1 - m_2$) được hiệu chỉnh cho sự có mặt của chất không bay hơi chiết được từ thuốc thử và cũng như đối với bất kì sự thay đổi nào của các điều kiện môi trường của phòng cân và chênh lệch về nhiệt độ giữa bình thu nhận chất béo và phòng cân của hai lần cân (9.4.15 và 9.3).

Trong các điều kiện thích hợp (giá trị thấp trong thử mẫu trắng về thuốc thử, nhiệt độ cân bằng của phòng cân, thời gian làm đủ nguội cho bình đựng chất béo), giá trị này thường nhỏ hơn 0,5 mg và sau này có thể bỏ qua trong phần tính kết quả ở trường hợp xác định thông thường. Giá trị hơi lớn hơn (dương và âm) lên đến 2,5 mg cũng thường gặp. Sau khi điều chỉnh các giá trị này, các kết quả sẽ đúng. Khi điều chỉnh giá trị lớn hơn 2,5 mg thì phải nêu trong phần báo cáo kết quả (điều 12).

Nếu giá trị thu được trong phần thử mẫu trắng thường lớn hơn 1,0 mg, thì nên kiểm tra lại thuốc thử nếu như thuốc thử chưa được kiểm tra. Thuốc thử có lẫn tạp chất hoặc có vết thì cần phải thay thế hoặc làm sạch (xem 9.2.2 và A.1).

A.3 Thử peroxit

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

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

Để đảm bảo cho dietyl ete 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 dietyl ete, dùng khoảng 80 cm² lá kẽm cho 1 lít ete dietyl.

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

Rửa kỹ các dải này nhẹ nhàng bằng nước, rồi đặt các dải đã mạ đồng còn ướt này vào trong chai đựng dietyl ete và để các dải này 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/kg chất chống oxi hoá có bán sẵn ở một số nước, đặc biệt dùng để xác định chất béo. Hàm lượng này không dùng cho mục đích đối chứng.

Ở một số nước khác, ete dietyl có bán sẵn với hàm lượng chất chống oxi hoá cao hơn, thí dụ như lên đến 7mg/kg. Những ete như thế chỉ nên sử dụng cho các phép xác định thông thường với các phép thử mẫu trắng bắt buộc tiến hành đồng thời với việc xác định để điều chỉnh những sai số hệ thống do dư lượng chất chống oxi hoá gây ra. Đối với mục đích đối chứng, ete dietyl này phải được chưng cất trước khi sử dụng.

A.5 Etanol

Có thể sử dụng etanol đã bị biến tính mà không phải do metanol với điều kiện là chất làm biến tính đó không ảnh hưởng đến kết quả xác định.

Phụ lục B

(tham khảo)

Qui trình 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 nối với chai rửa thì tiến hành theo qui định trong phụ lục này. Các ống phải có nút bần chất lượng tốt như qui định đối với bình trong 6.6 (xem hình B.1 làm thí 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). Hai phần mẫu thử này phải cố gắng chuyển được hết lên đáy của từng ống chiết chất béo.

B.2.3 Thử mẫu trắng

Xem 9.2 và A.2.

B.2.4 Chuẩn bị bình thu nhận chất béo

Xem 9.3.

B.2.5 Tiến hành xác định

B.2.5.1 Tiến hành ngay phép xác định.

Thực hiện các thao tác mô tả trong B.2.5.2 đến B.2.5.13 trên cả hai phần mẫu thử đã xử lý sơ bộ (B.2.2).

B.2.5.2 Cho 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 cả hai phần mẫu thử đựng trong các ống chiết chất béo (B.2.2). Lắc kĩ phần mẫu thử đã xử lý sơ bộ trên đáy các ống chiết chất béo.

B.2.5.3 Thêm 10 ml etanol (5.2). Lắc kĩ một cách nhẹ nhàng phần trên đáy của hai ống chiết chất béo. Nếu cần, thêm 2 giọt dung dịch đỏ Congo (5.3).

B.2.5.4 Thêm 25 ml ete dietyl (5.4). Đậy các ống chiết chất béo bằng nút bần đã bão hoà nước (xem 6.6) hoặc bằng nắp làm bằng chất liệu khác đã làm ướt bằng nước (xem 6.6). Lắc mạnh cả hai ống, nhưng không quá mạnh (để tránh tạo nhũ) bằng cách đảo chiều trong khoảng 1 min. Nếu cần, làm mát các ống này dưới

dòng nước chảy. Sau đó cẩn thận mở nút và tráng nút và cổ các ống này bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) để cho nước rửa chảy vào ống chiết.

B.2.5.5 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 s như mô tả trong B.2.5.4.

B.2.5.6 Li tâm từ 1 min đến 5 min hai ống chiết chất béo đã đậy nút, ở 80 g đến 90 g. Nếu không có máy li tâm, đặt ống trên giá đỡ (6.7) ít nhất 30 min 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.2.5.7 Cẩn thận tháo bỏ nút, tráng nút và cổ của hai ống chiết chất béo bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Dùng chai rửa (6.8) để cho nước rửa chảy vào ống.

B.2.5.8 Lắp khớp nối si phông hoặc nối với chai rửa vào hai ống chiết chất béo. 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 các ống chiết chất béo.

Cẩn thận gạt được càng nhiều càng tốt lớp nổi trên bề mặt của cả hai ống chiết chất béo cho vào cùng một bình nhận chất béo (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 chọn). Tránh bất kỳ một tí nào của 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, thí dụ dùng bầu cao su được nối với một đoạn ống để tạo áp suất.

B.2.5.9 Tháo khớp nối khỏi cổ của hai ống nghiệm. Nâng nhẹ ống nối và tráng phần dưới của ống nối trong bằng một ít dung môi hỗn hợp (5.6). Hạ thấp và chèn lại ống nối và chuyển cả hai phần nước rửa vào cùng một bình thu nhận chất béo.

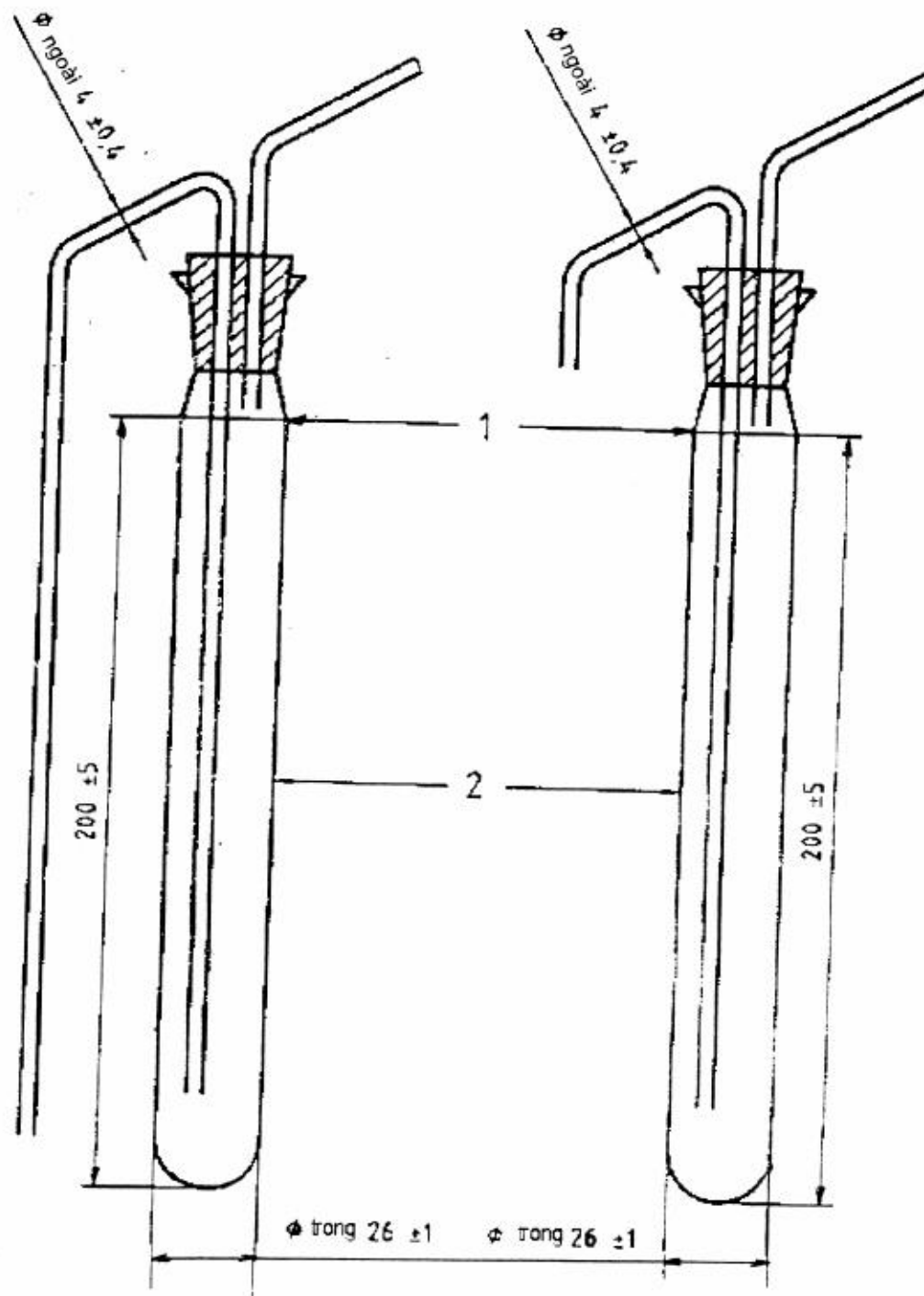
Tráng rửa khớp nối bằng một ít dung môi hỗn hợp, cho nước rửa vào cùng một bình nhận chất béo. Nếu cần, loại bỏ dung môi hoặc một phần dung môi khỏi bình nhận bằng cách chưng cất hoặc làm bay hơi như mô tả trong 9.4.13.

B.2.5.10 Tháo lại khớp nối khỏi cổ của các ống. Nâng nhẹ ống nối và thêm 5 ml etanol vào cả hai ống chiết chất béo. Dùng etanol để tráng thành trong của khớp nối. Lắc đều như mô tả trong B.2.5.3.

B.2.5.11 Thực hiện chiết lần hai bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong B.2.5.4 đến hết B.2.5.9. 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 cả hai khớp nối trong suốt quá trình tháo khớp nối ra khỏi hai ống chiết chất béo sau lần chiết lần trước đó.

B.2.5.12 Thực hiện chiết lần ba, không cho thêm etanol, bằng cách lặp lại các thao tác như mô tả trong B.2.5.4 đến B.2.5.9. Lặp lại các thao tác nhưng chỉ sử dụng 15 ml ete dietyl và 15 ml xăng nhẹ. Dùng ete dietyl để tráng thành trong của các khớp nối như mô tả trong B.2.5.11.

B.2.5.13 Tiến hành tiếp như mô tả trong 9.4.13 đến 9.4.15.



a) Có siphông

b) Nối với chai rửa

- 1 Thể tích ở mức khi đã tháo khớp nối 105 ml $\pm$ 5 ml.
- 2 Độ dày của thành ống 1,5 mm $\pm$ 0,5 mm.

Hình B.1 – Các thí dụ của ống chiết chất béo

Phụ lục

Tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 : 1998 (ISO 707) Sữa và sản phẩm sữa – Lấy mẫu.
 - [2] TCVN 6508 : 1999 (ISO 1211) Sữa – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (phương pháp chuẩn).
 - [3] TCVN 4550-88 (ISO 5725 : 1986) Độ chính xác của các phương pháp thử – Xác định độ lặp lại và độ tái lập đối với phương pháp thử chuẩn bằng thử liên phòng thí nghiệm.
 - [4] ISO 5725-1 : 1994 Độ chính xác của các phương pháp đo và các kết quả. Phần 1 : Các nguyên tắc chung và các định nghĩa.
 - [5] ISO 5725-2 : 1994 Độ chính xác của các phương pháp đo và các kết quả. Phần 2 : phương pháp xác định cơ bản về độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo chuẩn.
 - [6] Liên đoàn sữa quốc tế. Nghiên cứu cộng tác liên phòng thí nghiệm, Second series. Bull. Int. Dairy Fed., Số 235, 1988.
-