



CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.247 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 2/4
---	---------------------	---

## A. GIỚI THIỆU

### 1. Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng béo trong thức ăn chăn nuôi.

### 2. Tài liệu tham khảo

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: AOAC 996.06

### 3. Nguyên tắc

Phương pháp này cho phép xác định hàm lượng chất béo bằng cách thủy phân mẫu trong axit, sau đó chiết bằng dung môi hexan. Hàm lượng cặn còn lại sau khi bay hơi dung môi chính là hàm lượng béo tổng.

## B. THÔNG TIN AN TOÀN PHÒNG THÍ NGHIỆM

Các phương pháp an toàn phòng thí nghiệm cần phải được thực hiện nghiêm ngặt như sử dụng áo blouse, tủ hút, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ lao động khi cần thiết (thao tác pha axit HCl 8M và sử dụng hexan...)

Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

## C. THIẾT BỊ, DỤNG CỤ VÀ HÓA CHẤT

### 1. Thiết bị

- Cân phân tích, độ chính xác 0,1 mg
- Tủ sấy, bình hút ẩm
- Máy wortex, máy ly tâm, máy cô quay
- Bình cầu 100ml, phễu thủy tinh, ống ly tâm 50ml có nắp đậy
- Bếp đun cách thủy.

### 2. Hóa chất

- HCl P.A
- Ethanol 95%
- Hexan P.A
- Natri sulphate khan

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.247 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 3/4
---	---------------------	---

### 3. Chuẩn bị hóa chất

Dung dịch Acid HCl (8M): 250mL HCl đậm đặc vào 120mL nước cất.

### D. KIỂM SOÁT QA/QC

- Trong mỗi đợt phân tích phải thực hiện các mẫu kiểm soát sau:
  - ✓ Blank hóa chất.
  - ✓ Mẫu lặp lại.

### E. QUI TRÌNH THÍ NGHIỆM

#### 1. Cách thực hiện

Bình cầu được sấy ở  $100 \pm 1^{\circ}\text{C}$  khoảng 1 giờ, sau đó để trong bình hút ẩm đến nhiệt độ phòng, cân. Lặp lại quá trình trên đến khi đạt khối lượng không đổi  $m_0 (\pm 1 \text{ mg})$ .

Cân  $m_1$  g mẫu (khối lượng dao động từ 2-5 g, tùy thuộc vào hàm lượng béo có trong mẫu) đã được xay nhuyễn cho vào ống ly tâm 50ml, thêm vào 2ml ethanol, lắc đều bằng máy vortex khoảng 1 phút, thêm vào 10ml HCl 8M, đậy nắp, lắc đều bằng máy vortex trong 5 giây. Đặt trên bếp cách thủy đun ở  $80^{\circ}\text{C}$  trong 40 phút.

Lấy mẫu ra, cho vào ngay 10ml ethanol, lắc đều bằng máy vortex trong 5 giây sau đó làm lạnh về nhiệt độ phòng. Chiết mẫu bằng hexan (20 mL x 3), vortex và ly tâm 3000vòng/ phút trong 5 phút, sau đó lấy lớp trên cho vào phễu chiết. Lớp nước được chiết tiếp bằng diethyl ete (20 mL x 2) (dùng máy vortex và ly tâm), lấy lớp trên cho vào phễu chiết ở trên. Lọc lớp hexan qua  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  khan đã được thấm ướt trước bằng hexan, tráng nhiều lần lớp muối bằng hexan, cô quay ở  $45^{\circ}\text{C}$  đến cạn.

Sấy bình cầu ở  $100 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ít nhất 1 giờ, để nguội trong bình hút ẩm đến nhiệt độ phòng, cân. Lặp lại bước sấy, để nguội trong bình hút ẩm, cân đến khi thấy khối lượng không đổi ( $m_2$ ).

#### 2. Tính kết quả

Hàm lượng béo tổng trong mẫu được tính như sau:

$$\text{Béo (\%)} = \frac{(m_2 - m_0) * 100}{m_1}$$

**Trong đó:**

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.247 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 4/4
---	---------------------	---

- $m_0$ : khối lượng bình cầu sau khi sấy (g)
- $m_1$ : khối lượng mẫu (g)
- $m_2$ : khối lượng cặn + khối lượng bình cầu sau khi sấy (g)

## F. ĐẢM BẢO KẾT QUẢ THỬ NGHIỆM

Mẫu lặp lại được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu ( $\leq 10$  mẫu). Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá giới hạn cho phép theo phụ lục f AOAC

Nồng độ	RSD, %
100%	1.3
10%	1.9
1%	2.7
0.10%	3.7
100ppm	5.3
10ppm	7.3
1ppm	11
100ppb	15
10ppb	21
1ppb	30

## G. BÁO CÁO KẾT QUẢ

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong phiếu phân tích, bao gồm:

- Khối lượng cân  $m_0$ ,  $m_1$ ,  $m_2$
- Kết quả của mẫu thử, mẫu blank, mẫu QC
- Những ghi nhận hay thay đổi khác (nếu có)