

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 12080:2017

ISO 17780:2015

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT - XÁC ĐỊNH
CÁC HYDROCACBON BÉO TRONG DẦU THỰC VẬT**

Animal and vegetable fats and oils - Determination of aliphatic hydrocarbons in vegetable oils

HÀ NỘI - 2017

Lời nói đầu

TCVN 12080:2017 hoàn toàn tương đương với ISO 17780:2015;

TCVN 12080:2017 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F2
Dầu mỡ động vật và thực vật biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo
lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Lời giới thiệu

Các hydrocarbon bão hòa chủ yếu có mặt trong dầu thực vật là các *n*-alkan mạch dài, chứa trên 21 nguyên tử carbon và có số carbon lẻ [1].

Dầu khoáng có thể chứa các *n*-alkan lên đến 60 nguyên tử carbon mà không có số carbon lẻ chiếm ưu thế. Sắc ký đồ của dầu khoáng thu được bằng phương pháp này được đặc trưng bởi pic rộng do có mặt hỗn hợp phức tạp của các hydrocarbon phân nhánh bão hòa và các hydrocarbon vòng. Các loại dầu khoáng có độ sánh trung bình và thấp được đặc trưng bởi hỗn hợp phức tạp có độ dài mạch trong khoảng từ C10 đến C25; trong khi dầu khoáng có độ sánh cao cho thấy hỗn hợp phức tạp có điểm giữa quanh chiều dài mạch C30 [2]. Ủy ban chuyên gia quốc tế về Phụ gia thực phẩm (JECFA) của tổ chức FAO/WHO đã đưa ra một vài ADI cho dầu khoáng (2002) chia độ sánh của dầu khoáng trung bình-thấp thành ba phân lớp khác nhau phụ thuộc vào điểm độc tố. Phương pháp này không dễ phân biệt giữa các lớp khác nhau.

Sắc ký đồ của dầu diesel đặc trưng bởi sự có mặt của các *n*-alkan mạch dài từ C10 đến C25 không có carbon lẻ chiếm ưu thế, có nghĩa là số lượng các hydrocarbon chẵn và số carbon lẻ đều có mặt với các tỷ lệ như nhau.

Dầu mỡ động vật và thực vật –

Xác định các hydrocarbon béo trong dầu thực vật

Animal and vegetable fats and oils –

Determination of aliphatic hydrocarbons in vegetable oils

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định các hydrocarbon béo bão hòa từ C10 đến C56 có mặt tự nhiên trong dầu thực vật và để phát hiện sự có mặt của dầu khoáng và dầu diesel.

Phương pháp này cũng có thể áp dụng cho tất cả các loại dầu mỡ thô và đã tinh luyện, nồng độ của dầu khoáng từ 50 mg/kg đến 1 000 mg/kg.

Phương pháp nhanh đối với dầu tinh luyện và nguyên chất (hoặc ép nguội) được nêu trong Phụ lục C. Phương pháp nhanh này không thích hợp đối với dầu thô do không quan sát được thời gian lưu của triglycerid trong một số mẫu.

Phương pháp chiết soxhlet để thu hồi chất béo từ mẫu thực phẩm bằng hỗn hợp dung môi nêu trong Phụ lục D.

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 6128 (ISO 661) *Dầu mỡ động thực vật – Chuẩn bị mẫu thử.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Hàm lượng hydrocarbon (hydrocarbon contents)

Tổng các hydrocarbon béo bão hòa, biểu thị bằng phần khối lượng, xác định được bằng phương pháp qui định.

3.2

Hỗn hợp phức chất không phân giải (unresolved complex mixture)

UCM

Hỗn hợp phức chất của các hydrocarbon bão hòa không phân giải được bằng sắc ký khí, đặc trưng bởi pic rộng, có thể do sự nhiễm dầu khoáng

CHÚ THÍCH 1: Độ rộng của pic trong khoảng từ 5 min đến 15 min phụ thuộc vào các điều kiện sắc ký khí.

CHÚ THÍCH 2: Xem sắc ký đồ có liên quan trong Phụ lục A.

3.3

Diesel (diesel)

Tổng của các *n*-alkan bão hòa mạch dài trong khoảng từ C10 đến C25, biểu thị bằng phần khối lượng, xác định theo phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH: Xem sắc ký đồ có liên quan trong Phụ lục A.

4 Nguyên tắc

Các hydrocarbon béo bão hòa của mẫu được tách bằng sắc ký trên cột silica gel được thấm bạc nitrat và xác định bằng sắc ký khí mao quản có detector ion hóa ngọn lửa, sử dụng chất nội chuẩn. Từ sắc ký đồ, diện tích dầu khoáng tính được bằng cách lấy tổng diện tích pic bao gồm cả UCM trừ đi các diện tích pic *n*-alkan rõ nét (các hydrocarbon xuất hiện tự nhiên). Để nhận biết sự nhiễm diesel, cộng các diện tích pic của từng hydrocarbon mạch dài trong khoảng từ C10 đến C25 và định lượng chúng.

5 Thuốc thử

CẢNH BÁO – Thực hiện các qui định về xử lý các chất nguy hiểm. Cần tuân thủ các biện pháp an toàn kỹ thuật cho tổ chức và cá nhân.

Sử dụng các thuốc thử tinh khiết phân tích, trừ khi có qui định khác.

5.1 Silica gel 60 ¹⁾, siêu tinh khiết dùng cho sắc ký cột có cỡ hạt trong khoảng từ 60 µm đến 200 µm (70 mesh đến 230 mesh).

¹⁾ Silical gel được bán sẵn từ Merck, chuẩn 7754 hoặc 7734. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

5.2 Nước, đã được chưng cất và được làm nguội đến nhiệt độ phòng.

5.3 Natri sulfat khan, loại phân tích, độ tinh khiết tối thiểu 99 %.

CHÚ THÍCH: Natri sulfat có thể được thay bằng cát biển, đã được rửa bằng *n*-hexan.

5.4 *n*-hexan, loại phân tích vết hữu cơ, độ tinh khiết tối thiểu 99 %, phần còn lại sau khi bay hơi tối đa là 2 mg/kg.

CHÚ THÍCH 1: Có thể kiểm tra độ tinh khiết của hexan bằng cách cô đặc 200 ml hỗn hợp *n*-hexan với 2 ml dung dịch chuẩn (5.6) sử dụng bộ cô quay, hòa tan phần còn lại trong 0,2 ml *n*-hexan và phân tích 5 μ l bằng sắc ký khí (9.3).

CHÚ THÍCH 2: Có thể thay hexan bằng iso-octan, *n*-heptan hoặc hỗn hợp các alkan có điểm sôi từ 65 °C đến 70 °C, cho đến khi phần còn lại sau khi bay hơi tối đa là 2 mg/kg. Các dung môi có điểm sôi cao hơn điểm sôi của *n*-hexan thì có thời gian bay hơi lâu hơn. Nhưng các dung môi này được ưu tiên dùng hơn do tính độc của hexan.

5.5 Chất nội chuẩn: *n*-octadecan (C18), độ tinh khiết tối thiểu 99 %.

n-octadecan có thể được thay bằng *n*-eicosan (C20). Trước khi chọn một trong hai hợp chất này làm chất nội chuẩn, cần đánh giá để chắc chắn là không có chất đồng rửa giải với các pic khác từ mẫu cần phân tích.

n-octadecan phải được thay bằng naphthalen nếu mẫu bị nhiễm dầu diesel để tránh sự chồng pic của chất nội chuẩn với các pic alkan cần được định lượng.

5.6 Dung dịch chất nội chuẩn, nồng độ khối lượng $\rho = 0,04$ mg/ml.

Ví dụ, cân khoảng 50 mg *n*-octadecan (5.5), chính xác đến mg và pha loãng đến 25 ml bằng *n*-hexan (5.4), sau đó tiến hành pha loãng hỗn hợp này lần thứ hai từ 1 ml thành 50 ml bằng *n*-hexan. Bảo quản dung dịch này ở nhiệt độ phòng để duy trì sự ổn định.

5.7 *n*-decan (C10), độ tinh khiết tối thiểu 99 %.

5.8 Dung dịch *n*-decan, nồng độ khối lượng $\rho = 0,04$ mg/ml.

Ví dụ, cân khoảng 50 mg *n*-decan (5.5), chính xác đến mg và pha loãng đến 25 ml bằng *n*-hexan (5.4), sau đó tiến hành pha loãng hỗn hợp này lần thứ hai từ 1 ml thành 50 ml bằng *n*-hexan. Bảo quản dung dịch này ở nhiệt độ phòng để duy trì sự ổn định của dung dịch.

5.9 Octatetracontan (C48), độ tinh khiết tối thiểu 99 %. Chất chuẩn này được sử dụng để hạn chế tích phân cả khối thành một thời gian lưu cụ thể mà tương ứng với thời gian lưu của hydrocarbon này.

5.10 Dung dịch octatetracontan, nồng độ khối lượng xấp xỉ $\rho = 0,08$ mg/ml.

Ví dụ, cân khoảng 2 mg octatetracontan (5.9), chính xác đến mg và pha loãng đến 25 ml bằng *n*-hexan (5.4). Bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng để duy trì sự ổn định của dung dịch.

CHÚ THÍCH: Octatetracontan hòa tan ít trong hexan ở nhiệt độ phòng do có điểm tan chảy cao. Tuy nhiên nồng độ của dung dịch octatetracontan không cần chỉnh xác nếu chỉ dùng để xác định giới hạn tích phân đối với pic đầu khoảng.

5.11 Bạc nitrat (AgNO_3), tinh khiết phân tích.

5.12 Dung dịch bạc nitrat (AgNO_3), nồng độ khối lượng $\rho = 0,75 \text{ g/ml}$.

Ví dụ, chuẩn bị silica gel bạc nitrat cho 3 cột, cân khoảng 4,5 g bạc nitrat hòa vào 6 ml nước cất (5.2).

5.13 Khí mang dùng cho sắc ký khí, heli hoặc hydro.

5.14 Khí phụ trợ dùng cho detector ion hóa ngọn lửa, hydro, không khí và khí nitơ phù hợp cho sắc ký khí.

5.15 Hỗn hợp chất chuẩn alkan C10 đến C40²⁾, dung dịch trong dung môi không phân cực.

5.16 Paraffin sánh và paraffin có độ lỏng cao³⁾, dung dịch trong dung môi không phân cực.

5.17 Dung dịch paraffin và *n*-octadecan, nồng độ khối lượng của paraffin $\rho = 0,5 \text{ mg/ml}$, nồng độ khối lượng của *n*-octadecan $\rho = 0,08 \text{ mg/ml}$.

Ví dụ, cân khoảng 500 mg paraffin sánh (5.16) và 80 mg *n*-octadecan (5.5), chỉnh xác đến miligam và pha loãng đến 10 ml bằng *n*-hexan (5.4), sau đó tiến hành pha loãng dung dịch này lần thứ hai từ 1 ml thành 100 ml bằng *n*-hexan. Bảo quản dung dịch này ở nhiệt độ phòng để duy trì sự ổn định của dung dịch.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

LƯU Ý – Các dụng cụ thủy tinh được sử dụng để xác định phải được làm sạch và tráng rửa kỹ bằng *n*-hexan (5.4) trước khi sử dụng, sao cho không còn dính tạp chất.

6.1 Cột thủy tinh dùng cho sắc ký (dài 30 cm đến 40 cm và đường kính trong từ 15 mm đến 20 mm), được lắp các đĩa thủy tinh thiêu kết và có nắp đáy bằng polytetrafluoroetylen (PTFE)

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng một miếng bông sợi được chiết bằng *n*-hexan để thay cho các đĩa thủy tinh thiêu kết trong cột thủy tinh.

²⁾ Hỗn hợp chuẩn alkan ở 50 mg/l có bán sẵn từ Sigma-Aldrich, chuẩn 68281 (www.sigmaaldrich.com). Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

³⁾ Paraffin nhớt có bán sẵn từ Merck, chuẩn 107160. Paraffin có độ lỏng cao có bán sẵn từ Merck, chuẩn 107174. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

6.2 Đũa thủy tinh

6.3 Bình cầu đáy tròn, dung tích 250 ml đến 500 ml.

6.4 Bộ cô quay, có chân không và nồi cách thủy ở 35 °C (khuyến cáo). Thực hiện cẩn thận để tránh bị nhiễm chéo. Làm sạch kỹ hệ thống giữa các lần xác định.

6.5 Bộ bay hơi tự động⁴⁾, dùng cho ống 10 ml (tùy chọn), các điều kiện vận hành được khuyến cáo: nhiệt độ của nồi cách thủy = 35 °C, áp suất khí nitơ = 5 psi.

6.6 Lọ đựng mẫu nhỏ hình nón bằng thủy tinh, dung tích 10 ml.

6.7 Sắc ký khí, thích hợp cho việc sử dụng với cột mao quản, được trang bị bộ bơm lên cột hoặc dụng cụ tương tự, lò có cài đặt chương trình nhiệt độ và detector ion hóa ngọn lửa (FID).

CHÚ THÍCH: Có thể sử dụng bộ bơm hóa hơi có cài đặt chương trình nhiệt độ (PTV).

6.8 Hệ thống thu thập dữ liệu, có thể tích phân thủ công.

6.9 Cột mao quản, có thể cài đặt chương trình nhiệt độ đến 400 °C (loại "nhiệt độ cao"), loại này cần có các đặc tính sau: pha tĩnh 100 % dimethylpolysiloxan hoặc 95 % dimetyl/ 5 % diphenyl polysiloxan, dài 15 m, đường kính trong 0,32 mm hoặc 0,25 mm, độ dày màng 0,1 µm.

CHÚ THÍCH: Để có thể tách pic dung môi và pic dầu khoáng chứa các hydrocarbon mạch ngắn (C10 đến C14), cần sử dụng cột mao quản dài 30 m.

6.10 Micro xyranh, dung tích 5 µl đến 10 µl, có thể phù hợp cho bộ bơm lên cột của thiết bị sắc ký khí.

6.11 Cân phân tích, đọc chính xác đến 0,001 g, có thể cân chính xác 0,001 g.

6.12 Pipet Pasteur, bằng thủy tinh.

Tránh sử dụng pipet Pasteur bằng chất dẻo. Không dùng màng polyetylen.

7 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình bảo quản và vận chuyển.

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 (ISO 5555)^[3].

⁴⁾ Bộ bay hơi Zymark TurboVap LV là ví dụ về sản phẩm phù hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn, có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6128 (ISO 661).

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị cột sắc ký

9.1.1 Chuẩn bị silica gel tẩm AgNO_3

Chuẩn bị cột silica gel bạc nitrat (cho 3 cột): cân 45 g silica gel (5.1) cho vào bình cầu đáy tròn 500 ml (6.3) được bọc lá nhôm. Dùng pipet Pasteur (6.12) thêm từng giọt dung dịch bạc nitrat (5.12), lắc liên tục. Lắc kỹ trong 30 min để đồng hóa. Sau khi kết thúc, bọc bình bằng lá nhôm và để yên ở nhiệt độ phòng 12 h trước khi sử dụng.

Để tăng khả năng đồng nhất, nên dùng máy lắc tự động. Nếu không có sẵn máy lắc tự động thì có thể đặt bình vào thiết bị cô quay và quay trong 30 min không có chân không.

CHÚ THÍCH 1: Silica gel đã tẩm AgNO_3 có thể bảo quản được một tuần ở nhiệt độ phòng, trong bình hút ẩm với điều kiện bình đựng được bọc bằng lá nhôm.

CHÚ THÍCH 2: Đối với các mục đích sàng lọc thì có thể thay cột silica gel tẩm AgNO_3 bằng cột silica gel không tẩm. Các kết quả sẽ bằng hoặc cao hơn các kết quả thu được khi sử dụng cột silica gel tẩm bạc.

CHÚ THÍCH 3: Đối với các loại dầu thực vật tinh luyện không phải bã dầu olive tinh luyện thì có thể thay cột silica gel tẩm AgNO_3 bằng cột silica gel không tẩm.

9.1.2 Nhồi cột

Hòa 18,5 g silica gel tẩm bạc nitrat (9.1.1) trong *n*-hexan (5.4) đựng trong cốc có mỏ. Đưa hỗn hợp đó vào cột (6.1) có chứa 40 ml *n*-hexan và dùng đũa thủy tinh (6.2) gõ nhẹ cột để nhồi. Thêm ít nhất 0,5 cm đến 1 cm natri sulfat (5.3) lên phía trên lớp silica gel – AgNO_3 , dùng luồng khí nitơ nén lớp silica gel bạc. Tráng rửa silica gel – AgNO_3 bằng 60 ml *n*-hexan (5.4) khác để loại các tạp chất trong silica gel – AgNO_3 .

Cột phải được bọc bằng giấy đen hoặc bằng lá nhôm để tránh bạc nitrat bị ôxi hóa.

Rửa giải dung môi cho đến khi mức dung môi trong cột còn khoảng 0,5 cm cao hơn lớp silica gel – AgNO_3 . Đặt bình cầu đáy tròn 250 ml (6.3) dưới cột sắc ký.

9.2 Rửa giải phần hydrocarbon

Cân 1 g mẫu, chính xác đến 1 mg, cho vào cốc có mỏ và thêm 1 ml dung dịch chất nội chuẩn (5.6), dùng pipet Pasteur (6.12) chuyển dung dịch này lên cột sắc ký (9.1.2) và để mẫu thấm vào pha tĩnh. Rửa cốc có mỏ hai lần, mỗi lần dùng 1 ml *n*-hexan (5.4) và đưa dung dịch lên cột. Rửa giải phần

hydrocarbon bằng 55 ml *n*-hexan (5.4) đặt khoảng 15 giọt trong 10 s, thu lấy phần dung dịch vào bình 250 ml (6.3). Cho bay hơi hết dung môi bằng thiết bị cô quay có nồi cách thủy cài đặt ở 35 °C (6.4) đến khoảng 1 ml hoặc 2 ml. Chuyển dung dịch cô đặc vào ống hình cầu 10 ml. Cô dung môi đến 0,5 ml trong ống hình cầu dưới dòng khí nitơ, sử dụng cùng nồi cách thủy ở 35 °C hoặc bộ bay hơi tự động (6.5). Chú ý rằng trong các bước bay hơi, không bay hơi phần cặn đến khô, để tránh thất thoát alkan dễ bay hơi.

Chỉnh thể tích dịch rửa giải *n*-hexan bằng cách phân tích 1 ml dung dịch paraffin (5.17) và thu lấy các phần liên tiếp của 50 ml, 10 ml và 10 ml, và phân tích từng phần bằng sắc ký khí (GC).

9.3 Sắc ký khí

9.3.1 Cài đặt sắc ký khí

Lắp cột (6.9) vào thiết bị sắc ký khí (6.7) và kiểm tra các điều kiện làm việc bằng cách bơm dung môi, *n*-hexan (5.4). Đường nền phải thẳng với độ trôi dương nhỏ. Nếu độ trôi cao, cần tiến hành ổn định cột, nếu độ trôi âm thì kiểm tra việc kết nối của cột.

Nếu cột được sử dụng lần đầu thì cần ổn định cột bằng cách gia nhiệt cột trong lò, sử dụng gradient nhiệt độ lên đến 370 °C (tùy thuộc vào nhiệt độ lò được chọn để dùng cho phân tích) trong 4 h. Duy trì nhiệt độ này trong 2 h.

9.3.2 Điều kiện làm việc đối với phép phân tích sắc ký khí

Các điều kiện làm việc sau đây đã cho thấy thích hợp với phép phân tích.

Cột	DB5 HT (dài 15 m, đường kính trong 0,25 mm, độ dày màng 0,10 µm)
Nhiệt độ buồng bơm	Nhiệt độ ban đầu 60 °C trong 3 min, cài đặt chương trình tăng nhiệt độ đến 350 °C với tốc độ 12 °C/min, giữ trong 10 min
Khí mang	Áp suất đầu vào của khí hydro là 100 kPa
Nhiệt độ detector	370 °C
Thể tích bơm	2 µl

CHÚ THÍCH: Khí sử dụng bộ bơm hóa hơi có cài đặt chương trình nhiệt độ, các điều kiện làm việc sau đã được chứng minh là thích hợp để phân tích: nhiệt độ ban đầu 50 °C trong 0,5 min; cài đặt chương trình tăng nhiệt độ đến 300 °C với tốc độ 300 °C, giữ trong 10 min.

Có thể điều chỉnh các điều kiện này phù hợp với các đặc tính của thiết bị sắc ký khí và cột. Tuy nhiên, nhiệt độ lò phải được nâng đến 350 °C để rửa giải các hydrocarbon có khối lượng phân tử cao. Tốc độ tăng nhiệt 12 °C/min là điều kiện tốt cho độ nhạy tốt do "độ dốc ít hơn" và độ trôi của đường nền được hạn chế.

Sắc ký đồ điển hình nêu trong Phụ lục A.

9.3.3 Nhận biết pic

Nhận biết chất nội chuẩn *n*-octadecan bằng cách bơm 2 µl dung dịch chuẩn (5.6). Kiểm tra độ phân giải của *n*-decan (C10) tách được khỏi pic dung môi bằng cách bơm 2 µl dung dịch chuẩn (5.8). Có thể kiểm tra độ phân giải của octatetracontan (C48) bằng cách bơm 2 µl dung dịch chuẩn (5.10). Xem sắc ký đồ trong Hình A.1 và Hình A.2.

Bơm 2 µl hỗn hợp chuẩn alkan C10 đến C40 (5.15) để nhận biết các diện tích đưa vào trong phần tính nồng độ alkan từ C10 đến C25 (Hình A.1).

Trong dầu hướng dương, các pic chính tương ứng với các hydrocarbon béo bão hòa C27, C29 và C31 (Hình A.3).

Có thể kiểm tra độ phân giải của paraffin có độ lỏng cao và paraffin sánh (5.16) bằng cách bơm 2 µl dung dịch chuẩn 0,5 mg/ml (Hình A.4 và Hình A.5).

Pic rộng khoảng 5 min đến 15 min, phụ thuộc vào các điều kiện GC, cho thấy phương pháp sắc ký không thể phân giải được hỗn hợp phức chất hydrocarbon (UMC) được cho là dầu khoáng (Hình A.6 đến Hình A.10).

Trong trường hợp dầu thực vật nhiễm dầu diesel thì sắc ký đồ được đặc trưng bởi sự có mặt của *n*-alkan có độ dài mạch từ C10 đến C25 không có số carbon lẻ chiếm ưu thế (Hình A.11). Naphthalen có thể được dùng làm chất nội chuẩn.

9.3.4 Hiệu năng của hệ thống sắc ký khí

Bơm 2 µl dung dịch paraffin và *n*-octadecan (5.17) để kiểm tra hiệu năng của phép phân tích sắc ký khí.

Tính độ thu hồi paraffin như sau:

$$R_{HC} = \frac{\sum A_{HC} \times C_{IS} \times 100}{A_{IS} \times C_{HC}}$$

Trong đó:

$\sum A_{HC}$ là diện tích pic của pic paraffin UCM (tích phân từ pic chất nội chuẩn đến cuối pic UCM – Hình A.4).

A_{IS} là diện tích pic của pic chất nội chuẩn (*n*-octadecan);

C_{18} là nồng độ của *n*-octadecan trong dung dịch chất nội chuẩn (5.17), tính bằng miligam trên mililit (mg/ml);

C_{HC} là nồng độ của paraffin trong dung dịch chất nội chuẩn (5.17), tính bằng miligam trên mililit (mg/ml).

Hệ thống sắc ký khí được coi là tối ưu nếu độ thu hồi của paraffin bằng hoặc lớn hơn 90 %.

9.4 Qui trình thử mẫu trắng

Cần phân tích mẫu trắng để thử độ tinh khiết của thuốc thử nhưng cũng có thể đánh giá sự nhiễm bẩn từ các nguồn khác như từ dụng cụ thủy tinh và thiết bị phân tích.

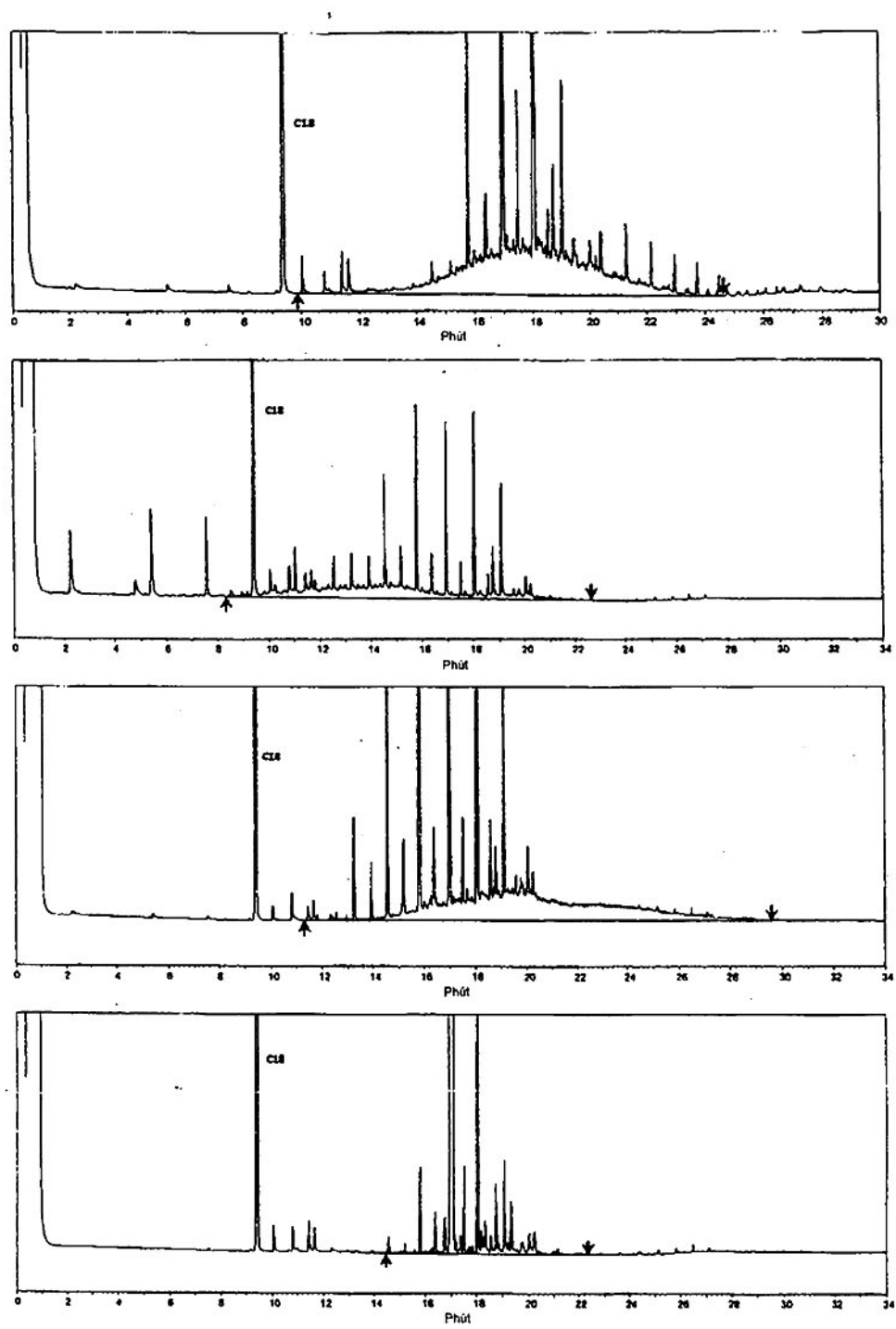
Hàm lượng dầu khoáng của qui trình thử trắng không vượt quá mức **10 mg/kg**. Nếu vượt quá mức này thì cần nhận biết và loại trừ các nguồn nhiễm bẩn.

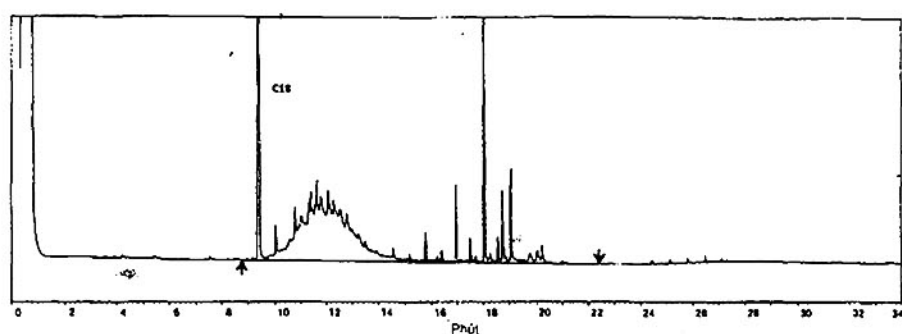
Các kết quả không được hiệu chỉnh bằng cách trừ đi hàm lượng mẫu trắng.

Qui trình thử trắng là mẫu trắng được tạo thành của tất cả các thuốc thử dự đoán để chuẩn bị phần mẫu thử và được xử lý để làm mẫu thử. Mẫu trắng bao gồm 1 ml chất nội chuẩn (5.6) được chuyển vào cột silica gel tẩm $AgNO_3$ và được phân tích như một mẫu thử. Mức nhiễm được biểu thị bằng miligam trên kilogam dầu thực vật, coi phép phân tích là 1 g dầu.

9.5 Phép định lượng

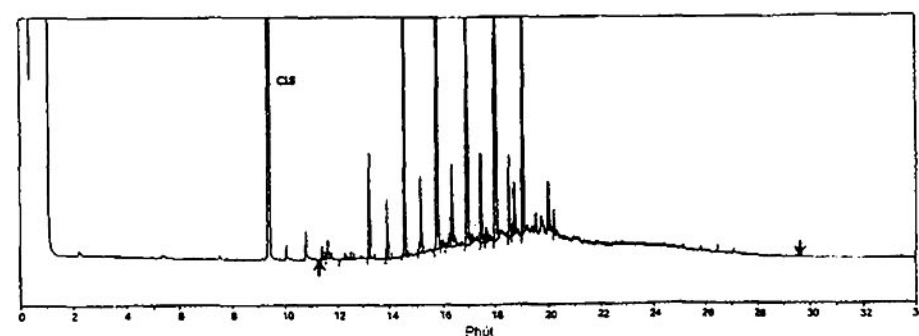
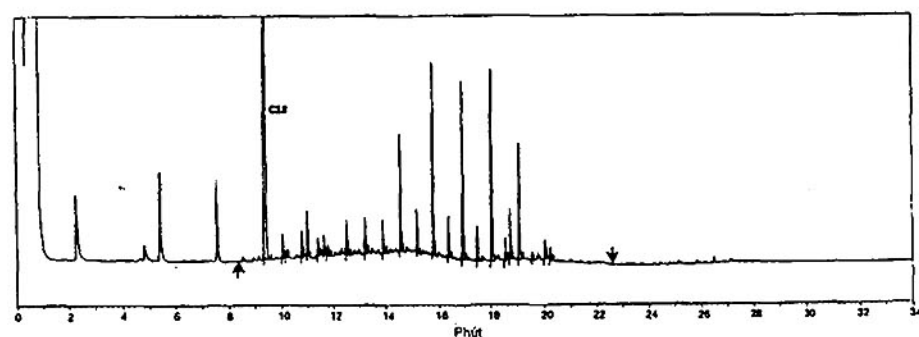
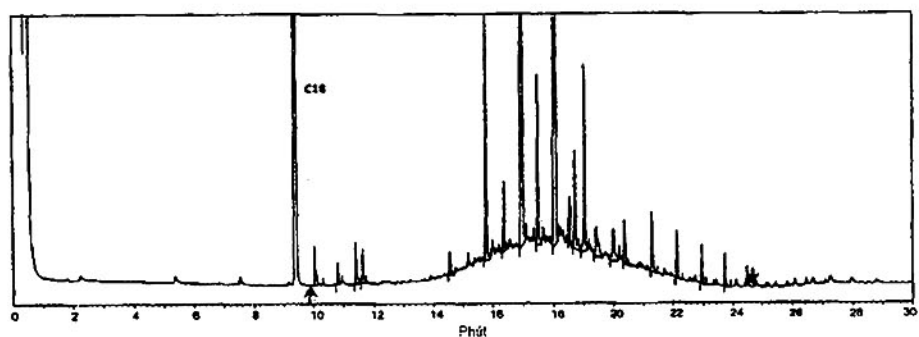
Để tính hàm lượng hydrocarbon trong UCM, đầu tiên xác định phần khối lượng của hydrocarbon tổng (W_{HC1}) bằng phương pháp tích phân thủ công, tổng tín hiệu hợp thành UCM và các pic rõ nét trên UCM từ điểm đường nền bắt đầu tăng cho đến khi đường nền của octatetracontan (C48) ở thời gian lưu. Tuy nhiên, tùy thuộc vào loại dầu khoáng mà việc tích phân UCM có thể bắt đầu trước thời gian lưu của chất nội chuẩn và có thể kết thúc sau thời gian lưu của octatetracontan (xem Hình 1 về các ví dụ tích phân tổng tín hiệu hydrocarbon; các mũi tên cho thấy thời điểm bắt đầu và kết thúc tích phân).

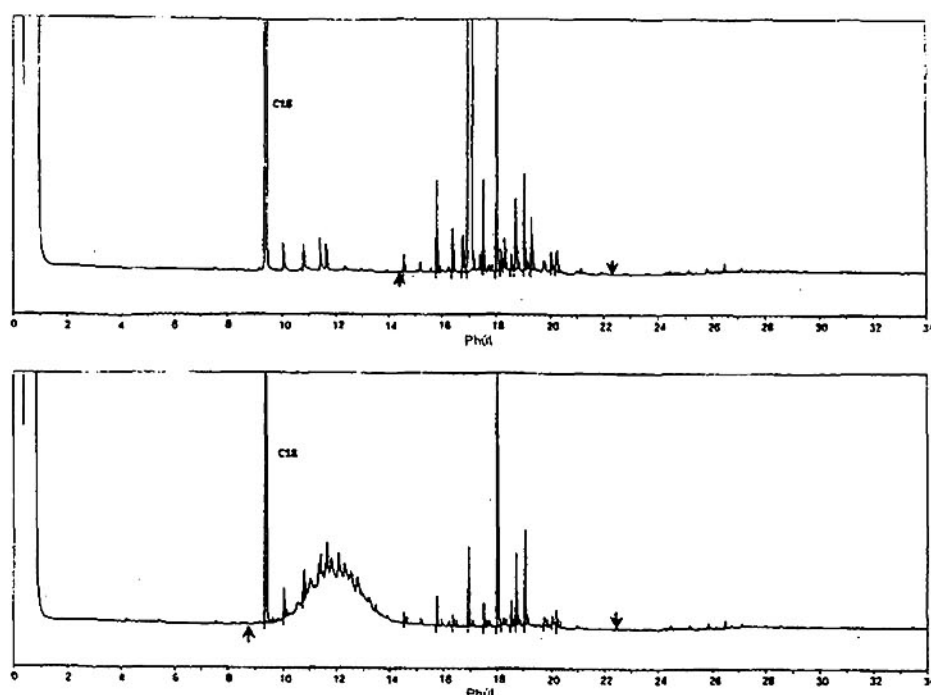




Hình 1 – Ví dụ về tích phân tổng tín hiệu hydrocarbon

Tích phân khối lượng của hydrocarbon có nguồn gốc tự nhiên (w_{HC2}), tích phân lại sắc ký đồ bằng cách vẽ thủ công đường nền từ đáy này sang đáy pic khác trên sắc ký đồ UCM đối với tất cả các pic rõ nét (xem Hình 2 về ví dụ tích phân tín hiệu hydrocarbon tự nhiên).





Hình 2 – Ví dụ về tích phân tín hiệu hydrocarbon tự nhiên

Nếu pic *n*-octadecan nằm trên pic UCM thì diện tích chuẩn xác định được trên sắc ký đồ thứ hai (tích phân từ đáy pic này đến đáy pic khác) (A_{IS}) bằng hiệu của tổng diện tích của sắc ký đồ thứ nhất (bao gồm UCM) trừ đi giá trị tổng hợp A_i .

Phần khối lượng w_{HC} của hàm lượng hydrocarbon, biểu thị bằng miligam trên kilogam, tính theo Công thức sau:

$$w_{HC} = \frac{\sum A_i \times m_{IS} \times 1000}{A_{IS} \times m}$$

Trong đó:

$\sum A_i$ là tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chất nội chuẩn (các pic trên UCM chỉ áp dụng cho w_{HC2} hoặc các pic UCM + các pic trên UCM chỉ áp dụng cho w_{HC1}).

A_{IS} là diện tích pic của chất nội chuẩn;

m_{IS} là khối lượng của chất nội chuẩn trong 1 ml dung dịch (5.6), tính bằng miligam (mg);

m là khối lượng của mẫu thử, tính bằng gam (g);

LOQ của pic UCM có thể thay đổi do phụ thuộc vào chiều rộng và chiều cao của pic, là chất phân tích không độc lập. Giá trị có sai số lớn do những biến thiên nhỏ trên đường nền tạo thành biến thiên lớn về diện tích. Ước tính LOQ là 25 mg/kg.

Để tính nồng độ UCM và các *n*-alkan rửa giải giữa C10 đến C25 thì cần đưa sắc ký đồ của mẫu và sắc ký đồ của hỗn hợp chuẩn alkan C10 đến C40 vào tích phân, phần UCM bao gồm dải từ C10 đến C25. Trong hỗn hợp chất chuẩn, không có mặt C25 và do vậy có thể tính được thời gian lưu.

Để tính nồng độ nhiễm dầu diesel, cần tiến hành tích phân các *n*-alkan, rửa giải giữa C10 đến C25. Cần đưa sắc ký đồ của mẫu và sắc ký đồ của hỗn hợp chuẩn alkan C10 đến C40 để nhận biết các pic cần phải tích phân (Hình A.11).

Dữ liệu xác nhận về việc tinh sạch silica gel tẩm bạc nitrat được nêu trong Phụ lục B.

10 Xác định hydrocarbon có nguồn gốc khoáng

Hàm lượng hydrocarbon có nguồn gốc khoáng ($W_{MO-C10-56}$), biểu thị bằng phần khối lượng miligam trên kilogam, tính theo Công thức sau:

$$W_{MO} = W_{HC1} - W_{HC2}$$

Kết quả được biểu thị bằng miligam trên kilogam dầu khoáng, tính theo chất nội chuẩn. Trong trường hợp $W_{MO-C10-25}$ thì tiến hành tích phân cả C25.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục E. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng cho các dải nồng độ và nền mẫu khác với các dải nồng độ và các nền mẫu đã nêu.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử độc lập, riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn độ lặp lại r nêu trong Bảng E.1, Bảng E.2 và Bảng E.3.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác

nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn độ tái lập R nêu trong Bảng E.1, Bảng E.2 và Bảng E.3.

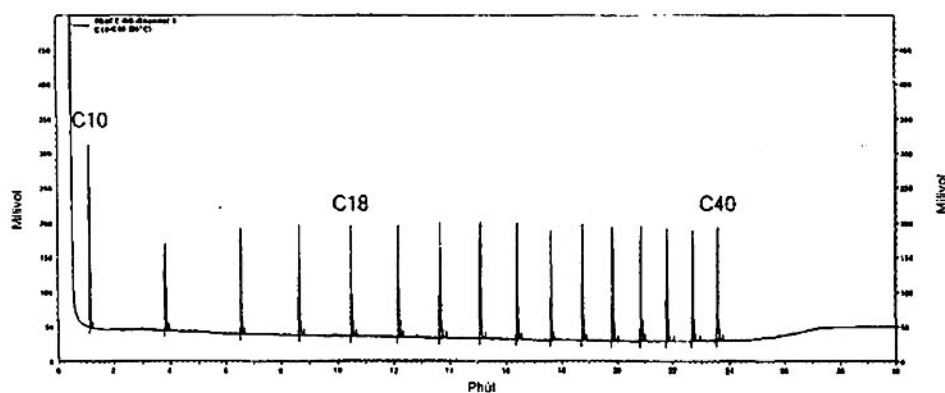
12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

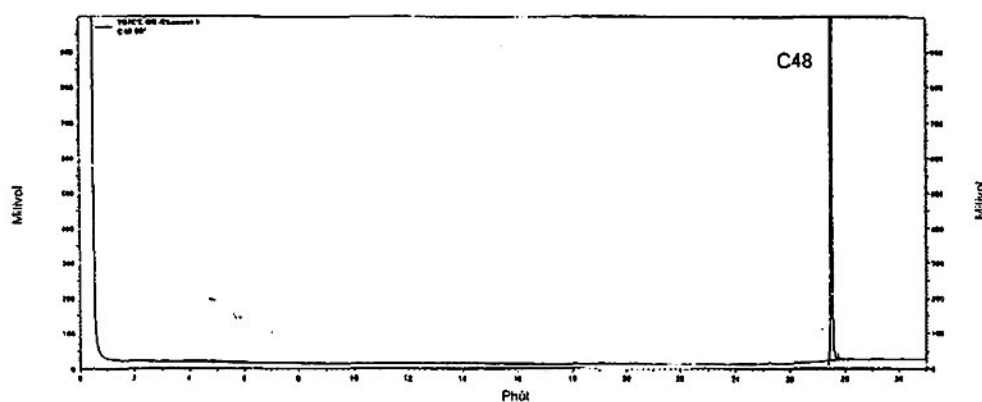
- mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- khối lượng của phần mẫu thử;
- mọi điều kiện thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được hoặc nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)

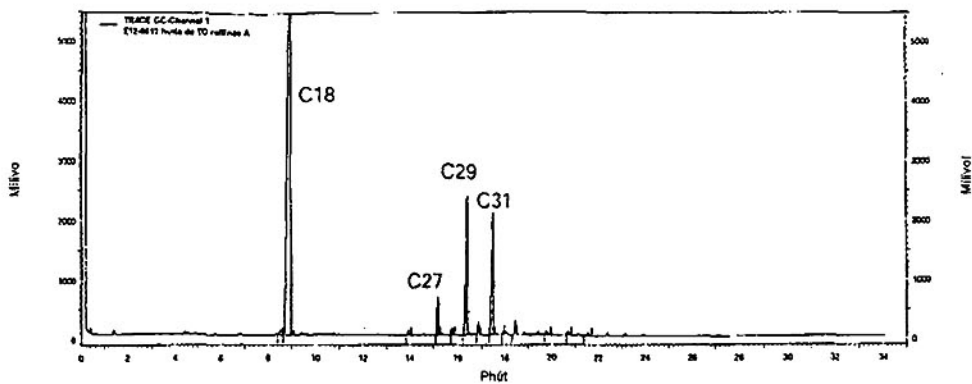
Ví dụ về sắc ký đồ



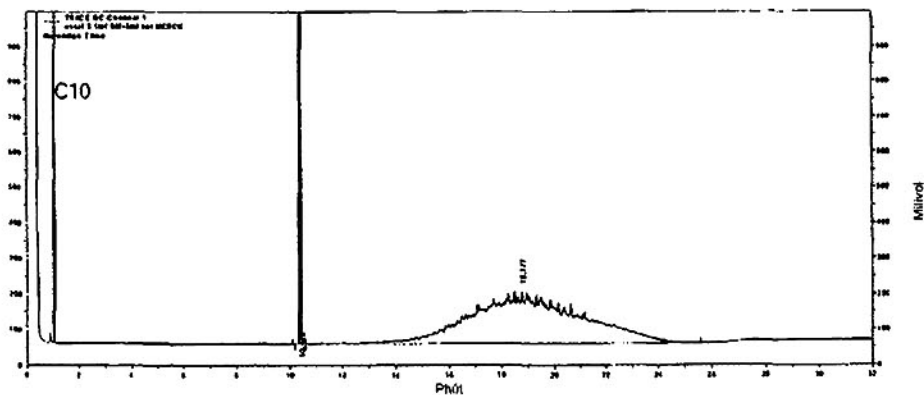
Hình A.1 – Sắc ký đồ GC của hỗn hợp chuẩn alkan C10 đến C40



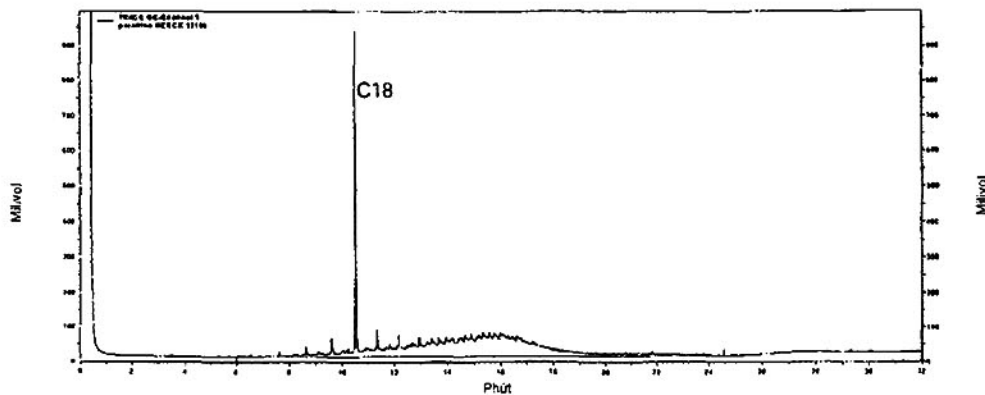
Hình A.2 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon chuẩn: octatetracontan



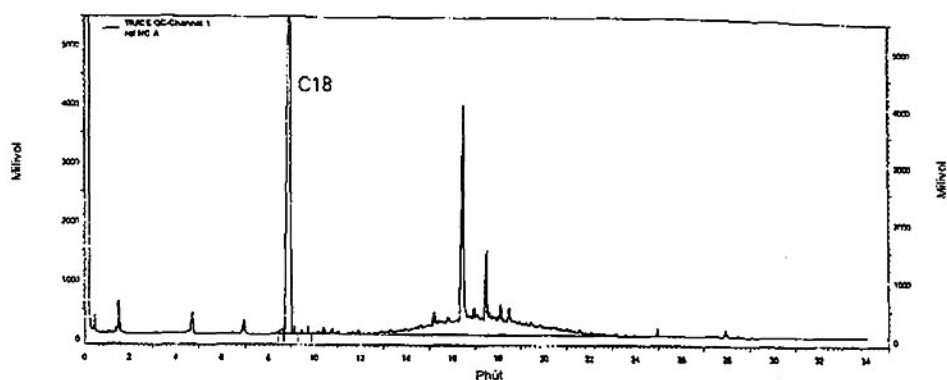
Hình A.3 – Sắc ký đồ GC của phần hydrocarbon béo của dầu hướng dương tinh luyện chưa nhiễm bẩn được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitra – chất nội chuẩn: *n*-octadecan



Hình A.4 – Sắc ký đồ GC của paraffin có độ sánh cao – Chất nội chuẩn: *n*-octadecan + *n*-decan

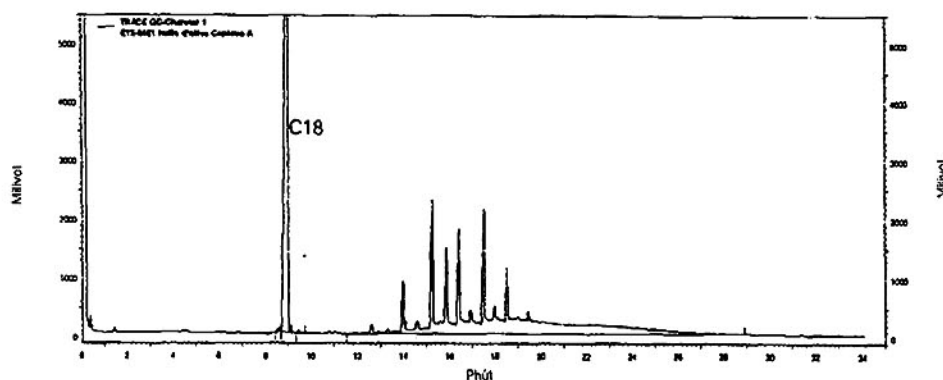


Hình A.5 – Sắc ký đồ GC của paraffin có độ sánh thấp – Chất nội chuẩn: *n*-octadecan



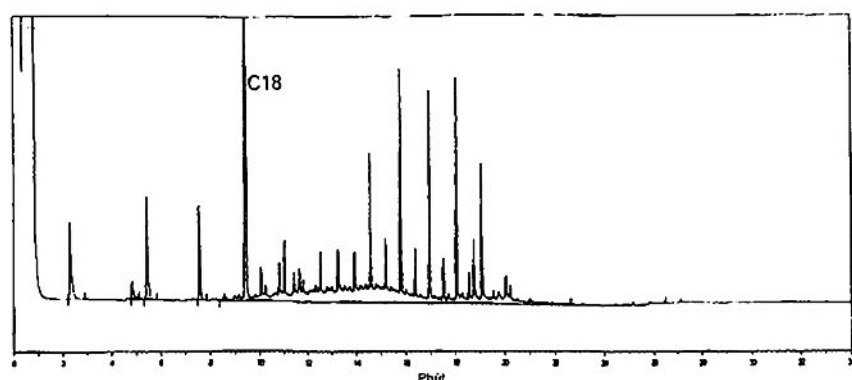
CHÚ THÍCH: Đường nền được xác định từ 10 min đến 25 min được dùng để tính hàm lượng hydrocarbon tổng số. Chất nội chuẩn: *n*-octadecan.

Hình A.6 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu hướng dương thô nhiễm bẩn (150 mg/kg) được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitrat



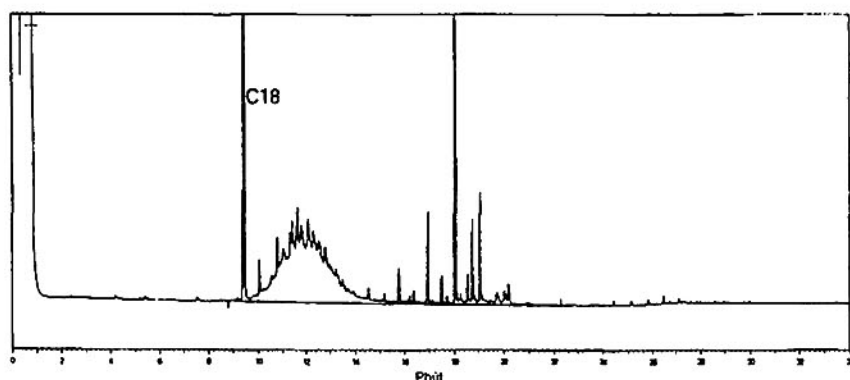
CHÚ THÍCH: Đường nền được xác định từ 11 min đến 28 min được dùng để tính hàm lượng hydrocarbon tổng số. Chất nội chuẩn: *n*-octadecan.

Hình A.7 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu bã ôliu được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitrat



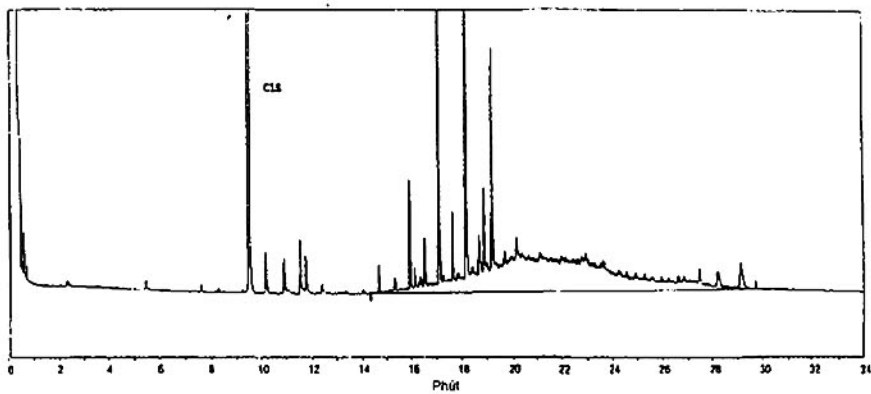
CHÚ THÍCH: Đường nền được xác định từ 8 min đến 23 min được dùng để tính hàm lượng hydrocarbon tổng số. Chất nội chuẩn: *n*-octadecan.

Hình A.8 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu ôliu nguyên chất thêm chuẩn (50 mg/kg) được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitrat



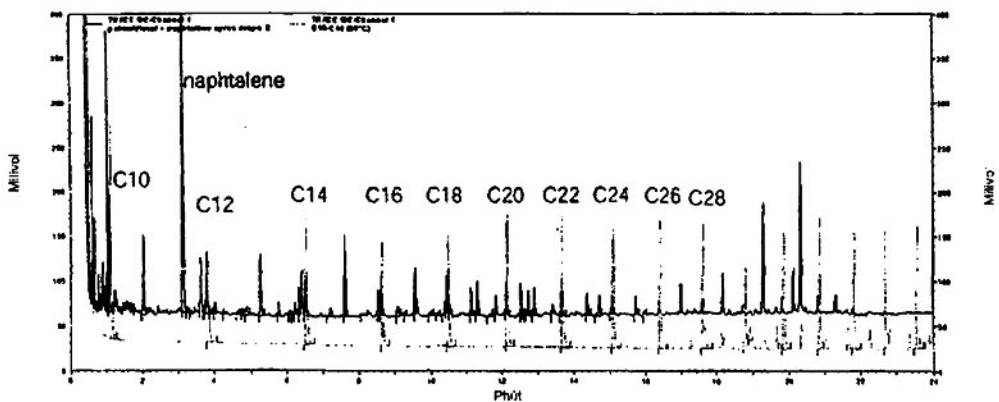
CHÚ THÍCH: Đường nền được xác định từ 9 min đến 22 min được dùng để tính hàm lượng hydrocarbon tổng số. Chất nội chuẩn: *n*-octadecan.

Hình A.9 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu đậu tương thô (90 mg/kg) được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitrat



CHÚ THÍCH: Đường nền được xác định từ 9 min đến 22 min được dùng để tính hàm lượng hydrocarbon tổng số. Chất nội chuẩn: *n*-octadecan.

Hình A.10 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu óc chó nhiễm bẩn được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitrat



CHÚ DẪN

Màu đen: Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu cọ thô nhiễm dầu diesel được tinh sạch bằng silica gel tẩm bạc nitrat – Chất nội chuẩn: naphthalen

Màu xanh: Sắc ký đồ GC của hỗn hợp chuẩn alkan từ C10 đến C40.

Hình A.11 – Hai sắc ký đồ GC chồng lên nhau

Phụ lục B

(Tham khảo)

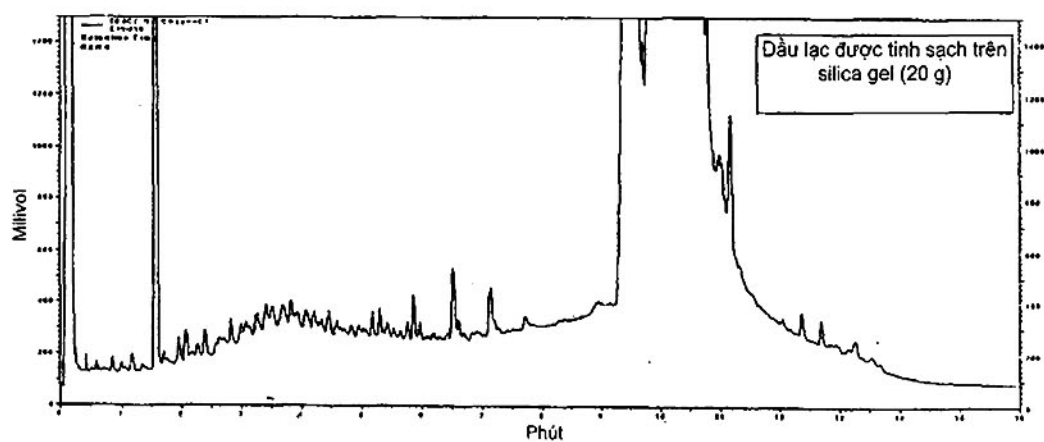
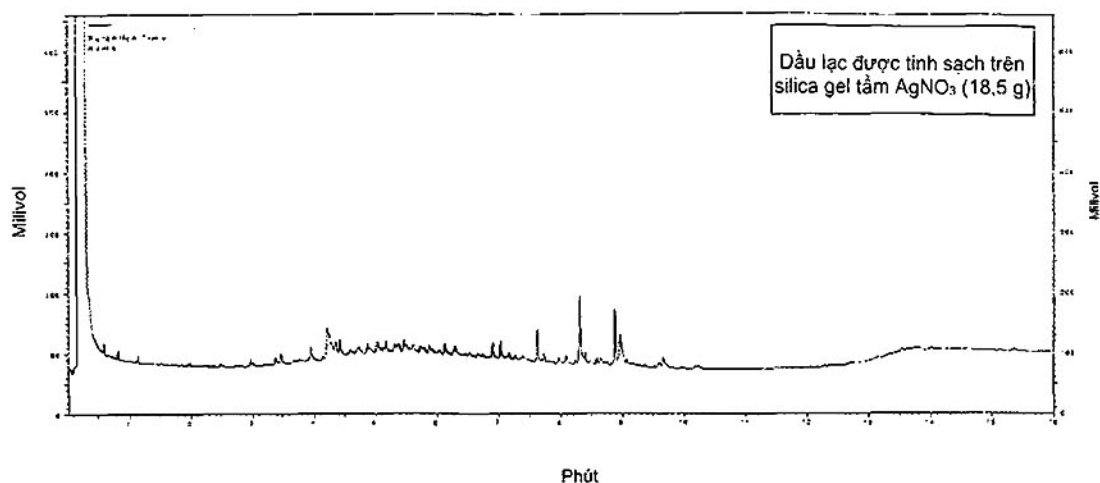
Đánh giá xác nhận việc tinh sạch silica gel tẩm bạc nitrat

Dầu hướng dương tinh luyện (REF) được thêm chuẩn với việc tăng lượng paraffin sánh để kiểm tra độ thu hồi, sử dụng *n*-octadecan làm chất nội chuẩn.

Độ thu hồi đã được tính đối với việc bổ sung hàm lượng dầu khoáng từ 10 mg/kg đến 1 000 mg/kg và các độ thu hồi trong khoảng từ 97 % đến 120 %. Đối với các nồng độ thấp hơn cho thấy ước tính hơi quá 20 %, tương ứng với 3 mg/kg.

Bảng B.1 – Dữ liệu độ thu hồi đối với việc bổ sung lượng dầu khoáng trong dầu thực vật

Mẫu	Lượng dầu khoáng (mg/kg)	Độ thu hồi (%)
REF	11	
REF + 10 mg/kg	23	120
REF + 20 mg/kg	33	109
REF + 50 mg/kg	65	106
REF + 500 mg/kg	497	97
REF + 1000 mg/kg	1004	99



Hình B.1 – Sắc ký đồ của dầu thực vật thô
cần tinh sạch trên cột silica gel tẩm bạc nitrat

Phụ lục C

(Tham khảo)

Quy trình đối với phương pháp nhanh

C.1 Yêu cầu chung

Quy trình cải biến này thường được sử dụng để phân tích dầu tinh luyện và dầu nguyên chất. Đối với một số mẫu dầu thô, phương pháp nhanh này có thể không đáp ứng được do thiếu thời gian lưu của các triglycerid.

C.2 Thuốc thử

C.2.1 Silica gel 60⁵⁾, siêu tinh khiết dùng cho sắc ký cột có cỡ hạt trong khoảng 60 µm đến 200 µm (70 mesh đến 230 mesh).

Thông thường, silica gel có thể được dùng trực tiếp từ vật chứa mà không cần bất kỳ việc xử lý nào. Tuy nhiên, một số mẻ silica cho thấy có hoạt độ thấp làm cho việc tách sắc ký kém. Trong các trường hợp này, silica gel phải được hoạt hóa bằng cách gia nhiệt ít nhất 4 h ở 500 °C. Sau khi gia nhiệt, đặt silica gel trong bình hút ẩm nguội đến nhiệt độ phòng và sau đó chuyển silica gel vào bình có nắp đậy kín. Thêm 2 % nước và lắc cho đến khi không thấy vón cục và tạo thành bột chảy tự do, giữ trong 12 h trước khi sử dụng.

C.2.2 *n*-Hexan, dùng cho phân tích vết hữu cơ, độ tinh khiết tối thiểu 99 %, phần còn lại sau khi bay hơi tối đa là 2 mg/kg.

CHÚ THÍCH Có thể kiểm tra độ tinh khiết của hexan bằng cách cô đặc 100 ml *n*-hexan trong bộ cô quay, hòa tan phần cặn trong 0,5 ml *n*-heptan hoặc *n*-hexan và phân tích bằng sắc ký khí.

C.2.3 Chất nội chuẩn *n*-octadecan (C18), độ tinh khiết tối thiểu 99 %.

C.2.4 Dung dịch *n*-octadecan, nồng độ khối lượng, $\rho = 0,16$ mg/ml.

Cân khoảng 40 mg *n*-octadecan (C.2.3), chính xác đến mg và pha loãng đến 25 ml bằng *n*-hexan (C.2.2), sau đó tiến hành pha loãng lần thứ hai hỗn hợp này từ 5 ml thành 50 ml bằng *n*-hexan. Dung dịch này có thể giữ trong tủ lạnh được một tháng.

⁵⁾ Silica gel có bán sẵn từ Merck, chuẩn 7754 hoặc 7734. Chuẩn này là ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

C.2.5 Khí mang dùng cho sắc ký khí, heli hoặc hydro.

C.2.6 Khí phụ trợ dùng cho detector ion hóa ngọn lửa, hydro, không khí, nitơ phù hợp cho sắc ký khí.

C.3 Thiết bị, dụng cụ

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

Dụng cụ thủy tinh dùng để xác định phải được làm sạch và tráng kỹ bằng *n*-hexan (C.2.2) trước khi sử dụng sao cho không có tạp chất.

C.3.1 Cột thủy tinh rỗng để chiết pha rắn (SPE)⁹⁾, có sợi thủy tinh frit, dung tích 6 ml.

C.3.2 Pipet chính xác, dung tích 0,5 ml và 1 ml.

C.3.3 Bình định mức, dung tích 5 ml.

C.3.4 Lọ đựng mẫu nhỏ bằng thủy tinh, dung tích 10 ml.

C.3.5 Lò nung, có thể duy trì nhiệt độ đến 400 °C.

C.3.6 Thiết bị sắc ký khí, thích hợp cho việc sử dụng với cột mao quản, được trang bị bơm lên cột hoặc dụng cụ tương đương, lò có cài đặt chương trình nhiệt độ và detector ion hóa ngọn lửa (FID).

C.3.7 Hệ thống thu thập dữ liệu, có thể tích phân thủ công.

C.3.8 Tiền cột mao quản silica gel đã bất hoạt, được nối với cột GC, không có pha tĩnh, dài 5 m, đường kính trong 0,53 mm, có thể cài đặt chương trình đến 400 °C (loại "nhiệt độ cao").

C.3.9 Cột mao quản, có thể cài đặt chương trình nhiệt độ đến 400 °C (loại "nhiệt độ cao"), nên có các đặc tính sau: pha tĩnh 95 % dimetyl/5 % diphenyl polysiloxan, dài 15 m hoặc 10 m, đường kính trong 0,32 mm hoặc 0,25 mm, độ dày màng 0,1 µm.

C.3.10 Micro xyranh, dung tích 100 µl, phù hợp cho việc bơm lên cột trong thiết bị sắc ký khí.

C.3.11 Cân phân tích, đọc chính xác đến 0,001 g.

C.3.12 Pipet Pasteur, bằng thủy tinh.

Tránh sử dụng pipet Pasteur bằng chất dẻo. Không dùng màng polyetylen.

⁹⁾ Cột thủy tinh rỗng để chiết pha rắn có bán sẵn từ Chromabond-Macherey-Nagel, chuẩn 730172. Chất chuẩn này là ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này

C.4 Cách tiến hành

C.4.1 Cân khoảng 2 g silica gel (C.2.1) cho vào cốc có mỏ và chuyển silica gel vào cột thủy tinh rỗng (C.3.1).

C.4.2 Tráng silica gel bằng 2 ml đến 3 ml *n*-hexan (C.2.2).

C.4.3 Rửa giải dung môi cho đến khi mức dung môi trong cột nhỏ hơn 0,5 cm cao hơn so với lớp silica gel.

C.4.4 Cân khoảng 2,5 g mẫu, chính xác đến 1 mg, cho vào bình định mức 5 ml (C.3.3) và dùng pipet chính xác (C.3.2) thêm 1 ml dung dịch nội chuẩn 0,16 mg/ml (C.2.4) và thêm *n*-hexan (C.2.2) đến vạch.

C.4.5 Dùng pipet chính xác (C.3.2) chuyển 500 µl dung dịch (C.4.4) lên đỉnh silica gel trong cột SPE (C.4.1).

C.4.6 Rửa giải dung môi và dùng pipet chính xác (C.3.2) tráng cột SPE bốn lần, mỗi lần 500 µl *n*-hexan (C.2.2) không để silica gel chảy đến khô.

C.4.7 Rửa giải phần dầu khoáng bằng 3,5 ml *n*-hexan (C.2.2) vào lọ thủy tinh đựng mẫu 10 ml (C.3.4).

C.4.8 Phân tích phần dầu khoáng bằng sắc ký khí mà không để dung môi bay hơi. Chọn các điều kiện sắc ký có tính đến các đặc tính của cột được sử dụng và loại khí mang. Tuy nhiên, chương trình nhiệt độ của lò GC phải nhanh để quan sát "gờ" tạo thành theo sự rửa giải dầu khoáng nặng (xem Hình C.1 và Hình C.2).

Ví dụ về các điều kiện phân tích được mô tả như sau:

Chương trình bơm thể tích lớn: đợi 7 s sau khi lắp kim vào bơm trước khi bơm, tốc độ bơm là 5 µl/s, đợi 7 s trước khi tiến hành tháo kim ra khỏi bơm

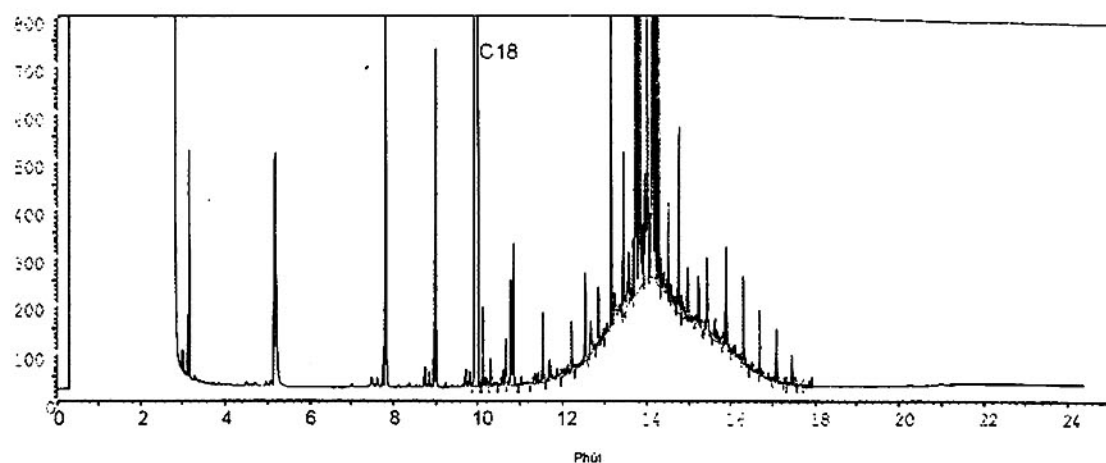
Nhiệt độ cột: giữ 65 °C trong 7 min, tăng từ 65 °C đến 350 °C với tốc độ 25 °C/min, tăng từ 350 °C đến 370 °C với tốc độ 5 °C/min, giữ ở nhiệt độ cuối cùng trong 10 min

Nhiệt độ detector: 380 °C

Áp suất khí mang (hydro): 50 KPa

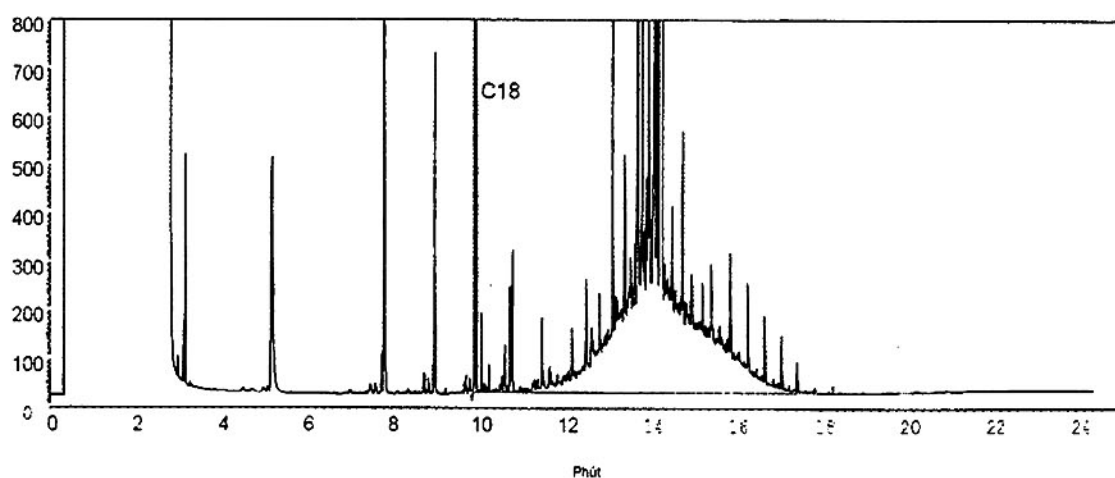
Thể tích bơm: 45 µl phần dầu khoáng (C.4.7)

Để tính hàm lượng hydrocarbon có nguồn gốc khoáng, tuân theo phương pháp chuẩn hóa đã được qui định.



CHÚ THÍCH: Hydrocarbon có nguồn gốc tự nhiên được xác định thủ công bằng cách vẽ đường nền từ đáy pic này sang đáy pic khác trên sắc ký đồ UCM.

Hình C.1 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu hướng dương tinh luyện có thêm chuẩn (150 mg/kg)



CHÚ THÍCH: Đường nền xác định được từ 10 min đến 18 min để tính hàm lượng hydrocarbon tổng số.

Hình C.2 – Sắc ký đồ GC của hydrocarbon béo của dầu hướng dương tinh luyện có thêm chuẩn (150 mg/kg)

Phụ lục D

(Tham khảo)

Chiết chất béo ra khỏi mẫu thực phẩm

D.1 Yêu cầu chung

Phương pháp này qui định phương pháp thu hồi chất béo từ mẫu thực phẩm bằng phương pháp chiết soxhlex bằng dung môi hỗn hợp. Các hydrocarbon béo bão hòa là một phần của mẫu chất béo được phân tích theo phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này: phân lập bằng sắc ký lỏng trên cột silica gel tẩm bạc nitrat và xác định bằng sắc ký khí mao quản có detector ion hóa ngọn lửa sử dụng chất chuẩn nội.

D.2 Thuốc thử

D.2.1 Celit 545, đất diatomit để lọc⁷⁾.

D.2.2 Bông sợi, dùng trong phòng thử nghiệm. Để loại bỏ vết dầu khoáng, các miếng bông sợi cần được giữ trong cốc có mỏ đựng đầy *n*-hexan, để qua đêm trước khi chiết.

D.2.3 Ống cellulose, gắn với bộ chiết, có thành dày khoảng 1 mm. Để loại bỏ vết dầu khoáng thường có trong ống cellulose, tất cả các ống phải được giữ trong cốc có mỏ đổ đầy *n*-hexan để qua một đêm trước khi chiết.

D.2.4 Dinatri sulfat (Na_2SO_4), khan, dạng hạt.

D.2.5 *n*-hexan, loại dùng cho phân tích vết hữu cơ, độ tinh khiết tối thiểu 99 %, phần còn lại sau khi bay hơi tối đa là 2 mg/kg.

CHÚ THÍCH 1: Có thể kiểm tra độ tinh khiết của *n*-hexan bằng cách cô đặc 200 ml *n*-hexan được trộn với 1 ml dung dịch nội chuẩn (C.2.4), sử dụng bộ cô quay, hòa tan phần còn lại trong 0,2 ml *n*-hexan và phân tích 5 μl bằng sắc ký khí.

CHÚ THÍCH 2: Có thể thay *n*-hexan bằng iso-octan, *n*-heptan hoặc hỗn hợp của alkan có điểm sôi từ 65 °C đến 70 °C, phần còn lại sau khi bay hơi tối đa là 2 mg/kg. Các dung môi có điểm sôi cao hơn *n*-hexan thì thời gian bay hơi dài hơn. Tuy nhiên, chúng vẫn được ưu tiên hơn vì tính độc của hexan.

⁷⁾ Celit 545 có bán sẵn từ VWR, chuẩn 22552.290 từ Sigma-Aldric, chuẩn 419931. Chuẩn này là ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

D.2.6 Propan-2-ol, loại dùng cho phân tích vết hữu cơ, độ tinh khiết tối thiểu 99 %, phần còn lại sau khi bay hơi tối đa là 2 mg/kg.

CHÚ THÍCH: Có thể kiểm tra độ tinh khiết của propan-2-ol bằng cách cô đặc 200 ml propan-2-ol được trộn với 1 ml dung dịch nội chuẩn (C.2.4), sử dụng bộ cô quay, hòa tan phần còn lại trong 0,2 ml *n*-hexan và phân tích 5 μ l bằng sắc ký khí.

D.2.7 Dung môi chiết, hỗn hợp của *n*-hexan và propan-2-ol, nồng độ thể tích là: $\sigma(\text{n-hexan}) = 60 \text{ ml}/100 \text{ ml}$, $\sigma(\text{propan-2-ol}) = 40 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

D.2.8 Chất nội chuẩn *n*-octadecan (C18), độ tinh khiết tối thiểu 99 %.

n-octadecan có thể được thay bằng *n*-eicosan (C20). Trước khi chọn một trong hai hợp chất này làm chất nội chuẩn thì cần kiểm tra xem có hay không chất đồng rửa giải với các pic khác từ mẫu cần phân tích.

n-octadecan có thể được thay bằng naphthalen nếu mẫu nhiễm dầu diesel, để tránh chồng pic của chất nội chuẩn với các pic alkan cần định lượng.

D.2.9 Dung dịch *n*-octadecan, nồng độ khối lượng $\rho = 0,04 \text{ mg/ml}$.

Ví dụ, cân khoảng 50 mg *n*-octadecan (C.2.3), chính xác đến mg và pha loãng đến 25 ml bằng *n*-hexan (C.2.2), sau đó tiến hành pha loãng lần thứ hai hỗn hợp này từ 1 ml thành 50 ml bằng *n*-hexan. Bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng để duy trì sự ổn định của dung dịch.

D.2.10 Mảnh thủy tinh trợ sôi, không chứa chất béo.

D.3 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ phòng thử nghiệm thông thường, cụ thể như sau:

Dụng cụ thủy tinh dùng để xác định phải được làm sạch và tráng kỹ bằng *n*-hexan (C.2.2) trước khi sử dụng sao cho không có tạp chất.

Tránh sử dụng pipet Pasteur bằng chất dẻo. Không dùng màng polyetylen.

D.3.1 Pipet chính xác, dung tích 2 ml.

D.3.2 Cân phân tích, có độ phân giải 0,0001 g.

D.3.3 Thiết bị Soxhlet, gồm các bộ phận sau: vỏ bọc gia nhiệt, bình cầu đáy tròn dung tích 250 ml, bộ chiết, bộ sinh hàn.

Thiết bị thay thế: **thiết bị chiết Soxhlet tự động**, gồm các bộ phận sau: tấm gia nhiệt, cốc có mỏ, bộ phận chiết và bộ sinh hàn.

D.3.4 Bộ cô quay, có chân không và nồi cách thủy ở 35 °C (nhiệt độ khuyến cáo). Cần tiến hành cẩn thận để tránh sự nhiễm bẩn chéo. Làm sạch kỹ hệ thống giữa mỗi phép xác định.

D.3.5 Lọ đựng mẫu nhỏ hình nón bằng thủy tinh, dung tích 10 ml.

D.3.6 Thìa, bằng kim loại.

D.4 Chiết chất béo ra khỏi mẫu thực phẩm

D.4.1 Chuẩn bị phần mẫu thử

Theo cảnh báo chung, phải sử dụng tất cả nguyên liệu mẫu phòng thử nghiệm đã tiếp nhận để thu được mẫu phòng thử nghiệm đại diện và đồng nhất mà không bị nhiễm thử cấp. Trong mọi trường hợp, nếu mẫu đã được đông lạnh thì cần rã đông hoàn toàn trước khi đồng hóa và lấy mẫu con.

Dùng cân phân tích (D.3.2), cân $5\text{ g} \pm 0,05\text{ g}$ mẫu thử đồng nhất, cho vào ống Soxhlet (D.3.3). Thêm 5 g Celit (D.2.1) và 5 g dinatri sulfat (D.2.4) và trộn bằng thìa kim loại (D.3.6). Mẫu phải được đẩy bằng miếng bông sợi (D.2.2) để tránh thất thoát mẫu trong quá trình ngưng tụ và hồi lưu dung môi chiết.

D.4.2 Quá trình chiết Soxhlet

Đặt ống vào khoang chiết Soxhlet; thêm 200 ml dung môi chiết (D.2.7) vào bình 250 ml (D.3.3), cùng vài miếng trợ sôi. Cài đặt nhiệt độ gia nhiệt và làm nguội sao cho thu được khoảng 6 chu kỳ trên một giờ. Thời gian chiết không quá 7 h.

Đối với bộ chiết Soxhlet tự động: Đặt ống chiết vào khoang chiết Soxhlet; thêm 130 ml dung môi chiết (D.2.7) vào cốc chiết (D.3.3), cùng vài miếng trợ sôi. Điều chỉnh bộ phận cảm ứng quang học đối với lượng mẫu. Cài đặt chương trình gia nhiệt và làm nguội sao cho có được khoảng 6 chu kỳ trên một giờ. Thời gian chiết không quá 7 h.

D.4.3 Làm bay hơi dung môi của phần dịch chiết thu được bằng thiết bị Soxhlet.

Dung môi được bay hơi đến khô bằng bộ cô quay (D.3.4) có gắn nồi cách thủy cài đặt đến 35 °C.

Thêm 2 ml dung dịch *n*-octadecan (D.2.9) vào bình cầu đáy tròn chứa dung dịch chiết và đồng hóa.

D.5 Tinh sạch dịch chiết chất béo

Phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này tiến hành tiếp theo bằng cách thay 1 g mẫu trong 9.2 bằng 1 ml dung dịch chiết chất béo thu được trong D.4.3.

Phụ lục E
(Tham khảo)

Kết quả của nghiên cứu liên phòng thử nghiệm

Năm 2013, phép thử liên phòng thử nghiệm quốc tế đầu tiên gồm 37 phòng thử nghiệm của 12 nước tham gia, tiến hành trên tám mẫu dầu dưới đây (từ A đến H) với các hàm lượng khác nhau. Các kết quả trên hai mẫu thực phẩm (I và K) đã được báo cáo lại để cung cấp thông tin.

A – dầu hướng dương tinh luyện

B – dầu ôliu nguyên chất thêm chuẩn với dầu khoáng lỏng ở mức 50 mg/kg

C – dầu đậu tương tinh luyện thô đã khử gum có thêm chuẩn với dầu trắng ở mức 450 mg/g

D – dầu hướng dương tinh luyện thêm chuẩn với dầu khoáng sánh ở mức 25 mg/kg

E – dầu hạt nho tinh luyện

F – dầu bã dầu ôliu tinh luyện

G – dầu cọ thô thêm chuẩn với dầu diesel ở mức 25 mg/kg

H – dầu hướng dương tinh luyện thêm chuẩn, với dầu khoáng sánh ở mức 100 mg/kg

I – margarin thương mại 82 % chất béo

K – mayonaise làm tại nhà được chế biến từ dầu hướng dương tinh luyện thêm chuẩn với dầu khoáng sánh ở mức 140 mg/kg

Phép thử được ITERG (Pháp) tổ chức và các kết quả thu được được phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[4] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[5] cho dữ liệu độ chụm nêu trong Bảng E.1 và Bảng E.2.

Bảng E.1 – Tóm tắt kết quả thống kê đối với mẫu A đến mẫu E

Mẫu	A	B	C	D	E
Số lượng phòng thử nghiệm tham gia, n_P	35	36	36	36	36
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ, n_p	28	31	32	31	31
Số lượng phép thử riêng rẽ trong tất cả các phòng thử nghiệm trên từng mẫu, n_z	56	62	64	62	62
Giá trị trung bình, (m) mg/kg	15,8	51,8	423,3	33,2	210,3
Giá trị thêm chuẩn, mg/kg	-	50	450	25	-
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	2,6	6,9	16,4	4,2	5,7
Hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r)$, %	16,2	13,3	3,9	12,6	2,7
Giới hạn lặp lại, $r(2,8 s_r)$, mg/kg	7,2	19,3	45,8	11,7	16,0
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	9,8	18,5	47,2	12,2	28,9
Hệ số biến thiên tái lập, $CV(R)$, %	61,9	35,7	11,1	36,6	13,8
Giới hạn tái lập, $R(2,8 s_R)$, mg/kg	27,3	51,7	132,1	34,0	81,0

Bảng E.2 – Tóm tắt kết quả thống kê đối với mẫu F đến mẫu K

Mẫu	F	G	H	I	K
Số lượng phòng thử nghiệm tham gia, n_P	36	24	35	21	19
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ, n_p	31	21	30	17	14
Số lượng phép thử riêng rẽ trong tất cả các phòng thử nghiệm trên từng mẫu, n_z	62	42	60	34	28
Giá trị trung bình, (m) mg/kg	162,9	24,1	105,0	29,5	147,9
Giá trị thêm chuẩn, mg/kg	-	25	100	-	140
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	9,0	3,0	5,5	3,9	8,4
Hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r)$, %	5,5	12,3	5,2	13,2	5,7
Giới hạn lặp lại, $r(2,8 s_r)$, mg/kg	25,1	8,3	15,3	10,9	23,4
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	25,3	15,6	16,9	22,7	23,5
Hệ số biến thiên tái lập, $CV(R)$, %	15,6	64,7	16,1	77,0	15,9
Giới hạn tái lập, $R(2,8 s_R)$, mg/kg	71,0	43,7	47,4	63,5	65,9

Vào năm 2014, phép thử liên phòng thử nghiệm lần thứ hai gồm 21 phòng thử nghiệm của 9 nước tham gia, tiến hành trên sáu mẫu dầu sau (từ I đến N) với các hàm lượng khác nhau.

I – bã dầu ôliu

J – dầu hạt cải tinh luyện

K – dầu hướng dương tinh luyện thêm chuẩn 100 mg/kg

L – dầu ô liu nguyên chất thêm chuẩn 50 mg/kg

M – dầu hướng dương tinh luyện thêm chuẩn 25 mg/kg

N – dầu đậu tương thô

Phép thử được ITERG (Pháp) tổ chức và các kết quả thu được được phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[4] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[5] cho dữ liệu độ chụm nêu trong Bảng E.3

Bảng E.3 – Tóm tắt kết quả thống kê đối với mẫu F đến mẫu K

Mẫu	I	J	K	L	M	N
Số lượng phòng thử nghiệm tham gia, n_P	20	20	20	20	20	20
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ, n_p	18	18	18	18	17	18
Số lượng phép thử riêng rẽ trong tất cả các phòng thử nghiệm trên từng mẫu, n_z	36	36	36	36	34	36
Giá trị trung bình, (m) mg/kg	118,8	11,1	107,1	52,1	37,5	89,9
Giá trị thêm chuẩn, mg/kg	-	-	100	50	25	-
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	4,4	3,1	3,7	5,5	2,7	5,0
Hệ số biến thiên lặp lại, $CV(r)$, %	3,7	28,1	3,4	10,5	7,2	5,6
Giới hạn lặp lại, r ($2,8 s_r$), mg/kg	12,4	8,7	10,3	15,3	7,6	14,0
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	14,8	8,2	11,2	10,0	9,6	9,2
Hệ số biến thiên tái lập, $CV(R)$, %	12,4	73,9	10,4	19,3	25,7	10,3
Giới hạn tái lập, R , ($2,8 s_R$), mg/kg	41,4	22,9	31,2	28,1	27,0	25,8

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] MCGILL A., MOFFAT C.F., MACKIE P.R., CRUICKSHANK P., The composition and concentration of n-alkanes in retail samples of edible oils. J. Sci. Food Agric. 1993, 61 pp. 357 – 362
 - [2] <http://www.efsa.europa.eu/en/data/call/datex100806.htm> - Call for scientific data on Mineral Oil hydrocarbons in food
 - [3] TCVN 2625 (ISO 5555), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu.*
 - [4] TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.*
 - [5] TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) *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.*
-