

TCVN 10708:2015

ISO 12871:2010

Xuất bản lần 1

**DẦU ÔLIU VÀ DẦU BÃ ÔLIU – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
CÁC ALCOL BÉO BẰNG SẮC KÝ KHÍ MAO QUẢN**

Olive oils and olive-pomace oils –

Determination of aliphatic alcohols content by capillary gas chromatography

HÀ NỘI – 2015

Lời nói đầu

TCVN 10708:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 12871:2010;

TCVN 10708:2015 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.

Dầu oliu và dầu bã oliu – Xác định hàm lượng các alcol béo bằng sắc ký khí mao quản

Olive oils and olive-pomace oils – Determination of aliphatic alcohols content by capillary gas chromatography

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định qui trình xác định hàm lượng các alcol béo trong dầu ôliu và dầu bã ôliu, tính bằng miligam trên kilôgam ^[4].

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 vật và thực vật – Chuẩn bị mẫu thử*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Hàm lượng các alcol béo (aliphatic alcohols content)

Tổng các alcol béo có số cacbon C₂₂, C₂₄, C₂₆ và C₂₈, tính theo phần khối lượng, xác định được theo phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

4 Nguyên tắc

Dầu được bổ sung 1-eicosanol làm chất chuẩn nội, được xà phòng hóa bởi kali hydroxit trong etanol và chiết chất không xà phòng hóa bằng dietyl ete. Phân đoạn alcol được tách ra khỏi chất không xà phòng

hóa bằng sắc ký trên tấm silica gel; các alcol được thu hồi lại từ silica gel được chuyển hóa thành trimethylsilyl ete (TMSE) và được phân tích bằng sắc ký khí mao quản.

5 Thuốc thử

CẢNH BÁO – Cần chú ý mọi qui định về xử lý các chất gây nguy hại. Các tổ chức và cá nhân phải tuân thủ các biện pháp về an toàn kỹ thuật.

Trong suốt quá trình phân tích, chỉ sử dụng các thuốc thử đạt chất lượng tinh khiết phân tích, nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương trừ khi có các qui định khác.

5.1 Kali hydroxit, dung dịch trong etanol, $c(\text{KOH}) \approx 2 \text{ mol/l}$.

Vừa làm lạnh vừa hòa tan 130 g kali hydroxit [$w(\text{KOH}) = \text{ít nhất } 85 \% \text{ khối lượng}$] trong 200 ml nước và thêm etanol đến 1 lít. Bảo quản dung dịch này trong chai thủy tinh mờ có nắp đậy kín.

5.2 Kali hydroxit, dung dịch trong etanol, $c(\text{KOH}) \approx 0,2 \text{ mol/l}$.

Hòa tan 13 g kali hydroxit trong 20 ml nước và thêm etanol đến 1 lít.

5.3 Dietyl ete.

5.4 Natri sulfat khan.

5.5 Tấm thủy tinh, được phủ silica gel, dày 0,25 mm, không có chỉ thị huỳnh quang.

Có thể sử dụng các sản phẩm có bán sẵn trên thị trường.

5.6 Benzen, loại dùng cho sắc kí.

5.7 Axeton, loại dùng cho sắc kí.

5.8 Hexan, loại dùng cho sắc kí.

5.9 Dietyl ete, loại dùng cho sắc kí.

5.10 Cloroform, loại dùng cho sắc kí.

5.11 Dung dịch đối chứng dùng cho sắc ký lớp mỏng, 1-eicosanol, dung dịch 0,5 g/100 ml trong cloroform, hoặc phân đoạn các alcol thu được như trong 9.2 từ chất không xà phòng hóa của dầu bã ôliu.

5.12 Dung dịch 2',7'-Diclorofluorescein trong etanol, 0,2 g/100 ml. Tạo kiềm nhẹ bằng cách thêm vài giọt dung dịch kali hydroxit trong alcol (5.1).

5.13 Pyridin khan, loại dùng cho sắc kí.

5.14 Hexametyldisilazan (HMDS).

5.15 Trimethylchlorosilan (TMCS).

5.16 Các dung dịch chuẩn của trimethylsilyl ete (TMSE), của các alcol béo từ C_{20} đến C_{28} . Chuẩn bị từ các hỗn hợp alcol tinh khiết ngay trước khi sử dụng.

5.17 Dung dịch chuẩn nội: dung dịch 1-eicosanol trong cloroform, nồng độ khối lượng 0,1 g/100 ml.

5.18 Khí mang: hydro hoặc heli, loại dùng cho sắc kí khí.

5.19 Khí phụ trợ, nitơ, loại dùng cho sắc ký khí.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

6.1 Bình cầu đáy tròn, dung tích 250 ml, được gắn với bộ sinh hàn hồi lưu có các khớp thủy tinh mài.

6.2 Phễu chiết, dung tích 500 ml.

6.3 Bình cầu đáy tròn, dung tích 250 ml.

6.4 Buồng sắc ký dùng cho sắc ký lớp mỏng, thích hợp cho các tấm thủy tinh kích thước 20 cm × 20 cm.

6.5 Đèn cực tím, bước sóng 366 nm hoặc 254 nm.

6.6 Microxyranh, dung tích 100 µl và 500 µl.

6.7 Phễu lọc hình trụ, có màng ngăn xốp G3 (lỗ 15 µm đến 40 µm) với các kích thước như sau: đường kính khoảng 2 cm, sâu khoảng 5 cm, được gắn thích hợp để lọc chân không và có khớp nối thủy tinh mài trong 12/21.

6.8 Bình nón chân không, dung tích 50 ml, có khớp thủy tinh mài ngoài 12/21, có thể gắn khớp với phễu lọc (6.7).

6.9 Ống nghiệm, dung tích 10 ml, có đáy hình côn và nắp đậy kín.

6.10 Máy sắc ký khí, thích hợp để sử dụng với cột mao quản, được trang bị các bộ phận qui định trong 6.10.1 đến 6.10.4.

6.10.1 Lò cột, có khả năng duy trì nhiệt độ chính xác $\pm 1^\circ\text{C}$.

6.10.2 Bộ bơm mẫu có chia dòng, có thể chỉnh được nhiệt độ, có bộ làm bay hơi bằng thủy tinh persilyl hóa hoặc có bộ bơm mẫu lên cột.

6.10.3 Detector ion hóa ngọn lửa.

6.10.4 Hệ thống tích phân.

6.11 Cột mao quản silica nóng chảy, dài 20 m đến 30 m, đường kính trong từ 0,25 mm đến 0,32 mm, có pha lỏng SE-52 hoặc SE-54¹⁾ hoặc loại tương đương, độ dày màng từ 0,10 µm đến 0,30 µm.

6.12 Microxyranh dùng cho máy sắc ký khí, dung tích 10 µl, có kim tiêm.

6.13 Cân phân tích, độ nhạy đến 1 mg (hiển thị 0,1 mg).

6.14 Bình hút ẩm, có canxi clorua làm chất hút ẩm.

6.15 Tủ sấy.

7 Lấy mẫu

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

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.

8 Chuẩn bị mẫu thử

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

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị chất không xà phòng hóa

9.1.1 Dùng microxyranh 500 µl (6.6) chuyển vào bình cầu đáy tròn dung tích 250 ml (6.1) một lượng dung dịch chuẩn nội (5.17) có chứa một lượng 1-eicosanol bằng khoảng 10 % hàm lượng alcol béo trong phần mẫu thử. Ví dụ, với 5 g mẫu, bổ sung 250 µl dung dịch chuẩn nội đối với dầu ôliu và 1 500 µl đối với dầu bã ôliu.

Làm bay hơi đến khô dưới dòng khí nitơ rồi dùng cân (6.13) để cân chính xác 5,000 g mẫu đã khô cho vào cùng một bình.

¹⁾ SE-52 và SE-54 là các ví dụ về sản phẩm phù hợp 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.

9.1.2 Thêm 50 ml dung dịch kali hydroxit trong etanol 2 mol/l (5.1), lắp bộ sinh hàn hồi lưu và cho sôi nhẹ trên nồi cách thủy, khuấy liên tục trong suốt quá trình làm nóng cho đến khi quá trình xà phòng hóa xảy ra, nghĩa là cho đến khi dung dịch trong. Tiếp tục đun thêm 20 min, sau đó thêm 50 ml nước qua bộ sinh hàn. Sau đó tháo bộ sinh hàn và để nguội bình đến khoảng 30 °C.

9.1.3 Chuyển định lượng lượng chứa trong bình vào phễu chiết 500 ml (6.2), tăng dần lượng chứa trong bình bằng cách thêm các phần, mỗi phần khoảng 50 ml nước. Thêm khoảng 80 ml dietyl ete (5.9), lắc mạnh trong khoảng 30 s rồi để cho lắng.

CHÚ THÍCH Nhũ tương bị phá vỡ bằng cách phun một lượng nhỏ dietyl ete hoặc metanol vào phễu.

Tách pha nước phía dưới, thu vào phễu chiết thứ hai. Tiến hành chiết pha nước thêm hai lần nữa theo cùng một qui trình như trên, dùng 60 ml đến 70 ml dietyl ete cho mỗi lần chiết.

9.1.4 Các chất chiết dietyl ete được gộp vào phễu chiết và được rửa bằng nước (một lần dùng 50 ml) cho đến khi nước rửa trung tính với phenolphthalein.

Loại bỏ nước rửa, làm khô bằng natri sulfat khan (5.4) và lọc vào bình cầu đáy tròn dung tích 250 ml (6.3) đã được cân trước, rửa phễu chiết và màng lọc bằng các lượng nhỏ dietylete rồi cho hết vào bình.

9.1.5 Chưng cất ete đến khi còn vài mililit rồi làm khô dưới chân không nhẹ hoặc dưới dòng khí nitơ, kết thúc quá trình làm khô trong tủ sấy (6.15) được duy trì ở 103 °C trong khoảng 10 min; dùng cân (6.13) cân sau khi để nguội trong bình hút ẩm (6.14).

9.2 Tách các phân đoạn alcol

9.2.1 Chuẩn bị các tấm TLC bằng cách nhúng các tấm silica gel (5.5) ngập hẳn trong dung dịch kali hydroxit 0,2 mol/l (5.2) trong 10 s, để khô các tấm này trong 2 h trong tủ hút và cuối cùng đặt chúng vào tủ sấy (6.15) ở 100 °C trong 1 h.

CHÚ THÍCH Khi các tấm silica gel được dùng để tách phân đoạn alcol, không cần xử lý chất không xà phòng hóa với nhôm oxit. Điều này cho phép tất cả các hợp chất axit (axit béo và các axit khác) được giữ lại ở điểm gốc, vì vậy tạo ra các dải alcol béo và các dải alcol terpenic, tách rõ khỏi dải sterol.

Lấy tấm TLC ra khỏi tủ sấy và bảo quản trong bình hút ẩm (6.14) cho đến khi sử dụng (các tấm xử lý bằng cách này phải được sử dụng trong vòng 15 ngày).

9.2.2 Cho hỗn hợp hexan-dietyl ete (65 ml/100 ml phần thể tích hexan và 35 ml/100 ml phần thể tích dietyl ete) vào bể khai triển đến độ sâu khoảng 1 cm.

Trong trường hợp cụ thể, dùng hỗn hợp rửa giải benzen-axeton (95 ml/100 ml phần thể tích benzen và 5 ml/100 ml phần thể tích axeton) để tách dải rõ ràng.

Đậy nắp bể sắc ký, sử dụng nắp đậy thích hợp và để trong nửa giờ để cân bằng giữa pha hơi và pha lỏng. Các dải giấy lọc được ngâm một phần trong chất rửa giải, có thể dán vào mặt trong của bể, để giảm khoảng một phần ba thời gian khai triển rồi thu lấy phần rửa giải đồng đều hơn của các thành phần.

Dùng dung dịch khai triển mới cho mỗi phép phân tích để thu được các điều kiện khai triển tái lập.

9.2.3 Chuẩn bị dung dịch của chất không xà phòng hóa (9.1.5) nồng độ khoảng 50 mg/ml trong cloroform và dùng microxyranh 100 μ l (6.6) dàn 0,3 ml dung dịch thành vạch với độ dày tối thiểu đồng đều, cách đáy tấm TLC khoảng 2 cm. Tạo các chấm 2 μ l đến 3 μ l dung dịch đối chứng alcol béo (5.11) thẳng hàng với gốc để nhận biết các dải alcol béo sau khi kết thúc triển khai.

9.2.4 Đặt tấm TLC vào trong bể khai triển (xem 9.2.2). Nhiệt độ bể phải được duy trì khoảng từ 15 °C đến 20 °C. Đậy ngay nắp bể và để rửa giải cho đến khi mặt dung môi đạt khoảng 1 cm cách mép trên của tấm sắc ký.

Lấy tấm TLC ra khỏi bể khai triển và làm bay hơi dung môi dưới dòng không khí nóng hoặc để tấm sắc ký trong tủ hút.

9.2.5 Khi đặt tấm TCL dưới đèn cực tím (6.5) để quan sát, phun nhẹ và đều lên tấm này dung dịch 2',7'-diclorofluorescein (5.12). Nhận biết dải alcol béo bằng cách so sánh vết thu được với dung dịch đối chứng: dùng bút chì đen, kẻ hai dải alcol béo và dải ngay trên hai dải đó, đó chính là dải alcol terpenic.

CHÚ THÍCH Dải alcol béo và dải alcol terpenic được lấy cùng nhau vì có thể có sự di chuyển của một số alcol béo vào dải alcol triterpenic.

9.2.6 Dùng dao kim loại, cạo hết silica gel trong vùng đánh dấu. Cho mẫu đã nghiền mịn vào phễu lọc (6.7). Thêm 10 ml cloroform sôi, trộn cẩn thận bằng dao kim loại và lọc dưới chân không, thu lấy dịch lọc vào bình nón (6.8) được gắn với phễu lọc.

Rửa phần còn lại trong bình ba lần bằng dietyl ete (5.3), mỗi lần dùng khoảng 10 ml, thu lấy dịch lọc vào bình được gắn với phễu lọc. Cho bay hơi dịch lọc đến khi còn khoảng 4 ml đến 5 ml, chuyển phần dung dịch còn lại vào ống nghiệm 10 ml (6.9) đã được cân trước, làm bay hơi đến khô bằng cách đun dưới dòng nitơ nhẹ, bổ sung tiếp vài giọt axeton, làm bay hơi lại đến khô, đặt vào tủ sấy (6.15) ở 103 °C trong khoảng 10 min sau đó để nguội trong bình hút ẩm (6.14) và dùng cân (6.13) để cân.

Phần còn lại trong ống nghiệm là phân đoạn alcol.

9.3 Chuẩn bị các trimetylsilyl ete

9.3.1 Thuốc thử silyl hóa, gồm có pyridin (5.13), hexametyldisilazan (HMDS, 5.14), trimetylclorosilan (TMCS, 5.15), cứ 50 μ l mỗi miligam alcol béo lấy các phần thể tích tương ứng: 9 ml/13 ml; 3 ml/13 ml, 1 ml/13 ml bổ sung vào ống nghiệm chứa phân đoạn alcol (9.2.6), tránh hấp thụ ẩm.

CHÚ THÍCH Các dung dịch pha sẵn để sử dụng có bán sẵn. Các thuốc thử silyl hóa khác như bis-trimetylsilyl, trifluoroacetamid + trimetylsilyl clorosilan 1 %, được pha loãng bằng một thể tích tương đương pyridin khan cũng sẵn có.

Màu trắng đục có thể hình thành là bình thường và không phải là nguyên nhân gây nhiễu. Hiện tượng hình thành cụm xộp trắng hoặc xuất hiện màu hồng cho thấy thuốc thử bị ẩm hoặc bị giảm chất lượng. Nếu xuất hiện hiện tượng này thì phải tiến hành lại phép thử.

9.3.2 Đậy nắp ống nghiệm, lắc cẩn thận (không đảo chiều) cho đến khi các alcol béo hòa tan hết. Để yên ít nhất 15 min ở nhiệt độ phòng rồi li tâm trong vài phút. Dung dịch trong thu được dùng cho phép phân tích sắc ký khí.

9.4 Phân tích sắc ký khí

9.4.1 Chuẩn bị sơ bộ và nhồi cột

9.4.1.1 Lắp cột (6.11) vào máy sắc ký khí (6.10), gắn một đầu vào với bộ bơm được nối với hệ thống chia dòng (6.10.2) và đầu ra với detector (6.10.3). Tiến hành kiểm tra tổng thể các bộ phận của máy sắc ký khí (độ kín của ống nối khí, hiệu suất của detector, hiệu suất của hệ thống chia dòng và hiệu suất của hệ thống ghi v.v...).

9.4.1.2 Ổn định cột trong lần sử dụng đầu tiên. Cho một lượng khí mang nhỏ đi qua cột mao quản, sau đó bật bộ sắc ký khí và làm nóng từ từ cho đến khi đạt được nhiệt độ không nhỏ hơn 20 °C so với nhiệt độ vận hành. Duy trì nhiệt độ này không ít hơn 2 h. Sau đó, đưa máy sắc ký khí về các điều kiện vận hành [bằng cách điều chỉnh tốc độ dòng khí, bộ phận chia lửa, bộ phận nối với máy ghi điện tử, điều chỉnh nhiệt độ của lò cột mao quản (6.10.1), detector và bộ bơm v.v...] và chỉnh tín hiệu độ nhạy sao cho ít nhất cao gấp đôi so với tín hiệu đã lập cho phép phân tích. Đường nền phải tuyến tính, không có bất kì pic nào và đường nền không bị trôi. Nếu đường nền trôi âm là do việc kết nối cột không đúng, còn nếu đường nền trôi dương là việc ổn định cột chưa đủ.

Nhiệt độ ổn định cột phải nhỏ hơn nhiệt độ tối đa thiết lập cho pha lỏng được sử dụng ít nhất là 20 °C.

9.4.2 Các điều kiện vận hành

9.4.2.1 Các điều kiện vận hành sau đây được khuyến cáo cho hệ thống sắc ký có bộ bơm chia dòng:

- a) nhiệt độ cột: nhiệt độ ban đầu được cài đặt đến 180 °C trong 8 min, sau đó được lập trình tăng với tốc độ 5 °C/min đến 260 °C và nhiệt độ cuối cùng được duy trì thêm 15 min ở 260 °C;
- b) nhiệt độ bơm: 280 °C;
- c) nhiệt độ detector: 290 °C;
- d) vận tốc tuyến tính của khí mang: heli là: 20 cm/s đến 35 cm/s, hydro là: 30 cm/s đến 50 cm/s;

e) tỉ lệ chia dòng: từ 1:50 đến 1:100;

f) lượng bơm: 0,5 µl đến 1 µl dung dịch TMSE.

Các điều kiện trên đây có thể được cải biến theo các đặc tính của cột và của máy sắc ký khí để thu được sắc đồ đáp ứng các điều kiện sau đây (xem thêm Hình A.1):

1) thời gian lưu đối với alcol C_{26} phải là (18 ± 5) min;

2) pic của alcol C_{22} phải là (80 ± 20) % giá trị toàn thang đo đối với dầu ô liu và (40 ± 20) % giá trị toàn thang đo đối với dầu bã ô liu.

9.4.2.2 Các yêu cầu trên phải được kiểm tra bằng cách lặp lại việc bơm hỗn hợp TMSE chuẩn của các alcol và các điều kiện vận hành được chỉnh để có thể có được các kết quả tốt nhất.

9.4.2.3 Các thông số để tích phân các pic phải được cài đặt sao cho đánh giá đúng diện tích các pic được xem xét.

9.4.3 Qui trình phân tích

9.4.3.1 Dùng microxyrăng 10 µl (6.12) lấy 1 µl hexan sau đó lấy 0,5 µl không khí, tiếp theo lấy 0,5 µl đến 1 µl dung dịch mẫu; đẩy mạnh pittông của xyrăng sao cho kim tiêm rỗng. Sau 1 s đến 2 s, đẩy kim tiêm qua màng bộ bơm, bơm nhanh; sau khoảng 5 s, rút kim tiêm ra từ từ.

9.4.3.2 Số đọc có hiệu lực khi TMSE của các alcol béo có mặt được rửa giải hoàn toàn. Đường nền phải luôn tương ứng với các yêu cầu của 9.4.1.2.

9.4.4 Nhận biết pic

Các pic riêng được nhận biết theo thời gian lưu của chúng và bằng cách so sánh với hỗn hợp TMSE chuẩn được phân tích trong cùng điều kiện.

Sắc ký đồ phân đoạn alcol của dầu ô liu nguyên chất được nêu trong Hình A.1.

9.4.5 Đánh giá định lượng

9.4.5.1 Diện tích pic của 1-eicosanol và các alcol béo C_{22} , C_{24} , C_{26} và C_{28} tính được bằng tích phân điện tử.

9.4.5.2 Hàm lượng của từng alcol béo, i , w_i , tính theo khối lượng được tính bằng miligam trên kilôgam dầu, được tính như sau:

$$w_i = \frac{A_i m_s \times 1000}{A_s m}$$

Trong đó

A_i là diện tích pic của alcol thứ i ;

A_s là diện tích pic của 1-eicosanol;

m_s là khối lượng 1-eicosanol, tính bằng miligam (mg);

m là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

10 Độ chụm

10.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

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

10.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm độc lập, riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp thử, tiến hành trên cùng một vật liệu thử, thực hiện trong cùng một phòng thử nghiệm, do một người phân tích, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị, r , nêu trong Bảng B.1.

10.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng một phương pháp thử, tiến hành trên cùng một vật liệu thử, thực hiện trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người phân tích khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị, R , nêu trong Bảng B.1.

11 Báo cáo thử nghiệm

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

- mọi thông tin cần thiết về 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;
- kết quả thử nghiệm thu được;

e) nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

f) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được coi là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Xác định vận tốc tuyến tính của khí

Bơm 1 µl đến 3 µl metan hoặc propan vào máy sắc ký khí ở các điều kiện vận hành chuẩn và đo, dùng đồng hồ bấm giờ theo dõi thời gian, t , để metan hoặc propan chảy qua cột ngay từ khi bơm vào pic nửa giải.

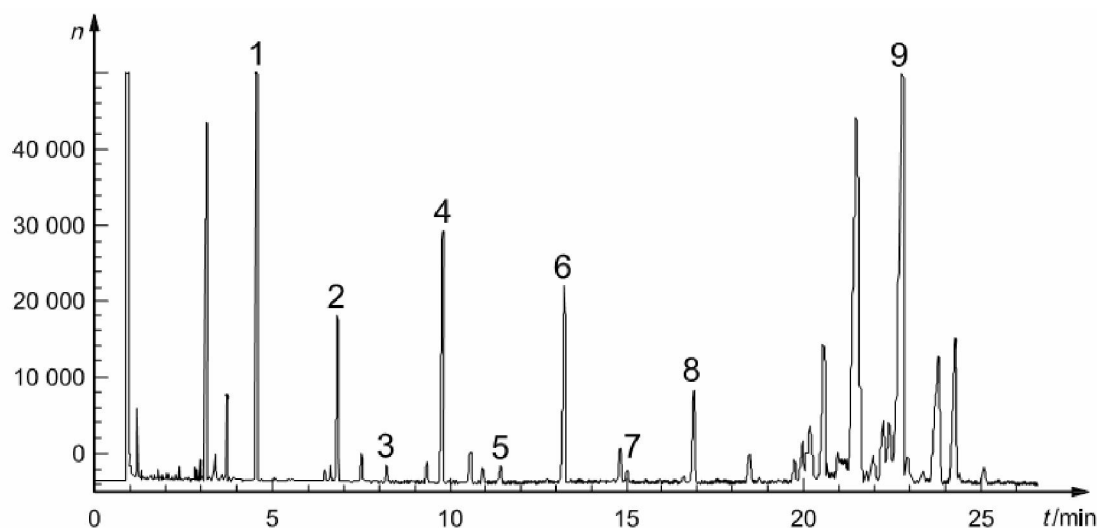
Vận tốc tuyến tính, v , tính bằng xentimet trên giây, được tính bằng công thức:

$$v = \frac{L}{t}$$

Trong đó

L là chiều dài của cột, tính bằng xentimet (cm);

t là thời gian đo được, tính bằng giây (s).



CHÚ DẪN

1	eicosanol	6	hexacosanol
2	docosanol	7	heptacosanol
3	tricosanol	8	octacosanol
4	tetracosanol	9	triterpenic alcol và methyl sterol
5	pentacosanol		
n	các số đếm	t	thời gian

Hình A.1 – Sắc ký đồ phân đoạn alcol của dầu ôliu nguyên chất

Phụ lục B

(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Dữ liệu về độ chụm đối với phương pháp được lấy từ các kết quả của phép thử nghiệm cộng tác quốc tế.

Tổng số có 15 phòng thử nghiệm – từ bảy quốc gia đã tham gia vào phép thử cộng tác được tổ chức trong tháng 5 đến tháng 6 năm 2003. Phép thử nghiệm do Viện Grasa (Viện Dầu và mỡ), Seville, Tây Ban Nha điều phối.

Các kết quả của phép thử nghiệm cộng tác đã được phân tích thống kê theo các khuyến cáo của Hướng dẫn Nghiên cứu Cộng tác^[5], tương đương với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[2] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[3]. Đối với mỗi phép xác định (lặp lại a và b) và đối với mỗi mẫu thử, các phòng thử nghiệm ngoại lệ được kiểm tra bằng các phép thử Cochran và Grubbs để cho các kết quả phòng thử nghiệm.

Phép thử được thực hiện trên năm mẫu dầu ôliu nguyên chất lampante và dầu bã ôliu thô thu được bằng cách li tâm bã dầu từ máy lắng gạn hai pha (COPO) và hỗn hợp của chúng (xem Bảng B.1). Về các kết quả, xem Bảng B.2.

Bảng B.1 – Thành phần các mẫu

Mẫu	Dầu ôliu nguyên chất lampante % phần thể tích	Dầu bã ôliu thô % phần thể tích
A	100	-
B	85	15
C	75	25
D	60	40
E	-	100

Bảng B.2 – Các kết quả thống kê về hàm lượng alcol béo tổng số ($C_{22} + C_{24} + C_{26} + C_{28}$)

Thông số	Mẫu				
	A	B	C	D	E
Số lượng phòng thử nghiệm tham gia, n_p	15	15	15	15	15
Số lượng phòng thử nghiệm được giữ lại sau khi trừ ngoại lệ, n_p	12	14	14	14	14
Số lượng kết quả trong tất cả các phòng thử nghiệm, n_t	24	28	28	28	28
Hàm lượng trung bình, w_i , mg/kg	245	363	440	541	997
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	6	10	10	13	19
Hệ số biến thiên lặp lại, $C_{V,r}$, %	2,4	2,8	2,3	2,4	1,9
Giới hạn lặp lại, r , mg/kg	16	28	29	36	54
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	17	28	58	54	71
Hệ số biến thiên tái lập, $C_{V,R}$, %	6,9	7,6	13,1	9,9	7,1
Giới hạn tái lập, R , mg/kg	47	78	161	150	198

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 2625 (ISO 5555), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu*
 - [2] 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.*
 - [3] 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.*
 - [4] COI/T.20/Doc. 18:2007, *Method of analysis: Determination of wax content by capillary column gas chromatography.*
 - [5] AOAC, International guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. *J. AOAC Int.* 1995, 78, 143A-160A.
-