

TCVN 6760 : 2000

ISO 9832 : 1992

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG HEXAN KỸ THUẬT**

*Animal and vegetable fats and oils –
Determination of residual technical hexane content*

HÀ NỘI -2000

Lời nói đầu

TCVN 6760 : 2000 hoàn toàn tương đương với ISO 9832 : 1992.

TCVN 6760 : 2000 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F2 - Dầu mỡ động vật và thực vật biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Dầu mỡ động vật và thực vật -

Xác định dư lượng hexan kỹ thuật

Animal and vegetable fats and oils -

Determination of residual technical hexane content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định dư lượng hexan kỹ thuật của dầu mỡ động vật và thực vật (gọi là chất béo).

Phương pháp này thích hợp cho việc xác định hàm lượng hexan trong khoảng từ 10 mg đến 1500 mg trên kilogam chất béo.

Phương pháp này không áp dụng cho các loại dầu cá biển.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

TCVN 6128 :1996 (ISO 661 : 1989), Dầu mỡ động vật và thực vật - Chuẩn bị mẫu thử

3 Định nghĩa

Trong tiêu chuẩn áp dụng định nghĩa sau đây :

3.1 Dư lượng hexan kỹ thuật : hàm lượng các hydrocacbon bay hơi bị giữ lại trong chất béo khi chế biến có dùng đến các dung môi hydrocacbon, xác định bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

Dư lượng hexan kỹ thuật được biểu thị bằng miligam hexan trên kilogam mẫu.

4 Nguyên tắc

Khử hấp thụ hydrocacbon bay hơi bằng cách đun nóng ở nhiệt độ 80°C trong bình đậy kín sau khi đã cho thêm chất chuẩn nội. Xác định hàm lượng hydrocacbon bay hơi cụ thể trong khoảng trống phía trên bằng sắc ký khí khi sử dụng cột nhồi hoặc cột mao dẫn.

TCVN 6760 : 2000

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử phân tích nếu không có qui định khác.

5.1 Hexan kỹ thuật, có thành phần giống thành phần của hexan được sử dụng trong sản xuất công nghiệp, hoặc, nếu không sẵn có sử dụng n-hexan.

Chú thích 1 - Khuyến cáo rằng nên sử dụng hexan kỹ thuật để hiệu chuẩn. Thuốc thử này thường có hàm lượng n - hexan 50 % (m/m) và chứa phần lớn các chất đồng phân C₆ nhưng cũng có thể chứa cả hidrocarbon C₅ và C₇.

5.2 Chất nội chuẩn, n-heptan.

Nếu không sẵn có n-heptan thì có thể sử dụng xyclohexan, với điều kiện là dung môi (5.1) sử dụng để triết hoặc hiệu chuẩn có hàm lượng không đáng kể của xyclohexan và / hoặc n-heptan hoặc các thành phần khác có thời gian lưu tương tự.

5.3 Khí mang, thí dụ : hidro, nitơ hoặc heli... đã khô kỹ và có hàm lượng oxi nhỏ hơn 10 mg/kg.

5.4 Khí phụ trợ, hidro (99,9 % tinh khiết, không chứa các tạp chất hữu cơ) và không khí (không chứa các tạp chất hữu cơ).

5.5 Chất béo để hiệu chuẩn, mỡ thực vật đã khử mùi và mới tinh chế, chứa một lượng hexan kỹ thuật không đáng kể.

Chú thích 2 - Chất béo để hiệu chuẩn này không nên chứa peroxit hoặc các thành phần khác làm phân huỷ tạo thành chất bay hơi mà có thể gây nhầm lẫn với hidrocarbon trong quá trình thử nghiệm.

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị dụng cụ của phòng thí nghiệm thông thường và đặc biệt như sau:

6.1 Các lọ nhỏ với lớp màng ngăn, dung tích 20 ml.

6.2 Màng ngăn, trơ với chất béo và dung môi, được làm bằng vật liệu như cao su butyl hoặc cao su đơ không chứa các cặn dung môi hidrocarbon và có chất lượng thích hợp để chúng không nở ra trong khi sử dụng, nắp nhôm là thích hợp để dùng với lọ (6.1) và kẹp gấp.

6.3 Kẹp, thích hợp để giữ các lọ nhỏ (6.1).

6.4 Xy lanh, có dung tích 10 µl chỉ sử dụng để phân tích dư lượng hexan kỹ thuật. Không được rửa chúng bằng dung môi hidrocarbon.

6.5 Xy lanh, dung tích 1µl chỉ sử dụng để phân tích dư lượng hexan kỹ thuật. Không được rửa chúng bằng dung môi hidrocarbon.

6.6 Xy lanh khí kín, dung tích 1000 µl chỉ sử dụng để phân tích dư lượng hexan kỹ thuật. Không được rửa chúng bằng dung môi hidrocarbon.

6.7 Sắc ký khí, có detector ion hoá ngọn lửa và bộ phân tích và / hoặc bộ ghi, được trang bị với hoặc là:

a) cột thuỷ tinh nhồi, dài 2 m đến 4 m và có đường kính trong khoảng 3,2 mm, được nhồi bằng

diatomit đã rửa bằng axit, có cỡ hạt từ 150 μm đến 180 μm (Chromosorb P NAW 60-80 mesh là thích hợp)¹⁾, được phủ bằng 10% squalance hoặc bất kỳ pha nào khác để tách được sắc phổ theo yêu cầu, hoặc .

b) cột mao dẫn thuỷ tinh, dài khoảng 30 m và có đường kính trong khoảng 0,3 mm, được phủ bằng màng mỏng metylpolyxyloxan 0,2 μm .

Nhiệt độ tiêm và phát hiện phải ở 100⁰ C và nhiệt độ tủ sấy ở 50⁰ C.

Nếu sử dụng cột mao dẫn [xem b)], thì thiết bị phải có hệ thống tiêm tách 1/100.

Chú thích 3 - Để phân tích hàng loạt, thì sắc ký khí buồng không gian hơi với tiêm mẫu từ động là thích hợp. Trong trường hợp này tiêm tay là không thích hợp.

6.8 Nồi đun nóng, được trang bị bộ kẹp để giữ các lọ, được điều chỉnh nhiệt độ ở 80⁰ C \pm 2⁰ C.

Chú thích 4 - Để thực hiện liên tục, nên dùng glyxerol làm môi trường đun nóng.

6.9 Máy lắc.

7 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 : 1999 (ISO 5555)²⁾.

Bảo vệ mẫu tránh hấp thụ thêm hoặc thất thoát dung môi.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6128 : 1996 (ISO 661), chú ý tránh bị hấp thụ thêm hoặc thất thoát dung môi.

9 Cách tiến hành

9.1 Hiệu chuẩn

9.1.1 Cân 5 g chất béo hiệu chuẩn (5.5) chính xác đến 0,01 g cho vào từng lọ trong dãy bảy lọ (6.1). Đậy các lọ bằng màng ngăn và nắp (6.2).

Dùng xy lanh (6.4 hoặc 6.5) lấy lượng dung môi (5.1) như qui định trong bảng 1 cho vào sáu trong bảy lọ (6.1) để thu được các nồng độ qui định. Không cho dung môi vào lọ thứ bảy.

¹⁾ Chromosorb P NAW 60 - 80 là ví dụ về sản phẩm phù hợp, dễ tìm thấy trong thương mại. Thông tin này chỉ đưa ra sự tiện lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không xác nhận sản phẩm đó trong ISO.

²⁾ ISO 5555 : 1999 - Dầu mỡ động vật và thực vật - Lấy mẫu.

TCVN 6760 : 2000

Lắc mạnh sáu lọ đã thêm dung môi bằng máy lắc (6.9) khoảng 1 h ở nhiệt độ phòng.

9.1.2 Cuối giai đoạn này dùng xy lanh (6.4) tiêm $5 \mu\text{l} \pm 0,1 \mu\text{l}$ chất nội chuẩn (5.2) vào tất cả bảy lọ qua màng ngăn.

Chú thích - Đối với nồng độ hexan từ 10 mg/kg, thích hợp nhất là thêm $2 \mu\text{l}$ chất chuẩn nội (5.2)

Bảng 1 - Hàm lượng hexan trong các mẫu hiệu chuẩn

Thể tích dung môi (5.1) được cho thêm μl	Hàm lượng hexan (mg/kg) khi sử dụng	
	hexan kỹ thuật	n- hexan
0,5	67	66
1	134	132
2	268	264
4	536	528
7	938	924
10	1340	1320

Trộn thật mạnh lượng chứa trong lọ khoảng 1 phút bằng cách dùng tay xoay tròn theo mặt phẳng nằm ngang sao cho chất béo không chạm đến màng ngăn. Nếu chất béo chạm đến màng ngăn thì huỷ bỏ lọ này và bắt đầu làm lại với phần chất béo hiệu chuẩn khác.

Chú thích 6 - Nếu chất béo dính vào màng ngăn thì nó sẽ nhiễm bẩn kim tiêm khi lấy mẫu và chất nhiễm bẩn có thể truyền sang cột; điều rất quan trọng khi sử dụng cột mao dẫn là phải tránh sự nhiễm bẩn này.

Cứ sau khoảng 15 phút (tức là thời gian lưu của chất nội chuẩn), đặt ngay một lọ ngập đến tận cổ trong bể đun nóng (6.8) ở 80°C để chất béo và pha khí đạt được độ cân bằng.

9.1.3 Từ mỗi lọ đã được làm nóng ở bể đun nóng trong $60 \text{ phút} \pm 1 \text{ phút}$, dùng xi lanh (6.6) đã được làm ấm đến 60°C lấy $1000 \mu\text{l}$ pha khí (vẫn nguyên trong bể đun nóng). Tiêm ngay pha khí đã lấy vào sắc ký khí.

9.1.4 Từ sắc đồ tương ứng với lọ thứ bảy không cho thêm dung môi, tính hàm lượng hexan A_c , biểu thị bằng phần trăm của tổng diện tích pic.

9.1.5 Từ sắc đồ tương ứng với mỗi lọ đã cho thêm dung môi, tính hệ số hiệu chuẩn F theo công thức sau:

$$F = \frac{w_h \times A_{is}}{(A_t - A_c - A_{is}) \times w_{is}}$$

trong đó

A_c là hàm lượng hexan tính được trong 9.1.4;

A_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic.

A_t là hàm lượng hydrocacbon tổng số, kể cả chất nội chuẩn có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic.

W_h là hàm lượng dung môi (5.1) có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng miligam trên kilogam;

w_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng miligam trên kilogam, tức là 680 đối với n-heptan hoặc 780 đối với xyclohexan.

Chú thích 7 - Nếu chỉ cho thêm 2 μ l trong 9.1.2 thì W_{is} sẽ bằng 272 đối với n-heptan hoặc 312 đối với xyclohexan.

Lấy kết quả đến chữ số thứ ba sau dấu phẩy.

Các hệ số hiệu chuẩn của sáu mẫu hiệu chuẩn phải xấp xỉ bằng nhau. Tính giá trị trung bình F , sẽ khoảng 0,45 đối với heptan. Hệ số F tính được đó có thể sử dụng để xác định các hàm lượng hexan ở mức nhỏ hơn 60 mg/kg. Nếu giá trị F tìm được đối với lọ chứa 0,5 μ l dung môi (5.1) thấp hơn đáng kể so với giá trị trung bình F , thì sai lệch này có thể là do khó khăn trong việc lấy chính xác 0,5 μ l và loại bỏ phép xác định này và lặp lại phép xác định mới.

Hệ số tiêu chuẩn trung bình đối với xyclohexan thông thường khoảng 0,57 và đối với n-heptan là khoảng 0,45.

9.2 Tiến hành xác định

9.2.1 Cân 5 g phần mẫu thử (điều 8), chính xác đến 0,01 g cho vào lọ (6.1) càng nhanh càng tốt. Đậy màng ngăn và nắp (6.2).

9.2.2 Dùng xy lanh (6.4) tiêm 5 μ l chất chuẩn nội (5.2) qua màng ngăn. Trộn thật mạnh lượng chứa trong lọ khoảng 1 phút bằng cách dùng tay xoay tròn theo mặt phẳng nằm ngang sao cho chất béo không chạm đến màng ngăn. Nếu chất béo chạm đến màng ngăn thì huỷ bỏ lọ này và bắt đầu làm lại với phần chất béo hiệu chuẩn khác. (Xem chú thích 6 trong 9.1.2). Đặt lọ ngập đến cổ trong nồi đun nóng (6.8) ở nhiệt độ 80° C trong 60 phút \pm 1 phút.

9.2.3 Dùng xy lanh (6.6) đã được làm ấm đến 60°C để lấy 1000 μ l pha khí trong khi vẫn để nguyên lọ trong bể đun nóng. Tiêm ngay pha khí đã lấy vào sắc ký khí.

9.2.4 Xác định hàm lượng dư lượng hexan kỹ thuật của mẫu từ sắc đồ (xem thí dụ hình 1), đo các pic nhận biết được là của hexan và không phải của các sản phẩm phân huỷ.

9.3 Số phép xác định

TCVN 6760 : 2000

Tiến hành xác định liên tục trên hai phần mẫu thử của cùng một mẫu thử.

10 Biểu thị kết quả

Hàm lượng hexan kỹ thuật của mẫu, w , tính bằng miligam trên kilogam theo công thức:

$$w = \frac{A'_t - A'_{is} \times \bar{F} \times w'_{is}}{A'_{is}}$$

trong đó

A'_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic;

A'_t là hàm lượng hydrocacbon tổng số, kể cả chất nội chuẩn, của mẫu thử, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic.

\bar{F} là hệ số hiệu chuẩn trung bình xác định được trong 9.1.5.

w'_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn có trong mẫu, tính bằng miligam trên kilogam, tức là 680 đối với n-heptan hoặc 780 đối với xyclohexan.

Lấy kết quả cuối cùng là trung bình cộng của hai phép xác định (9.3), với điều kiện thoả mãn yêu cầu về độ lặp lại (xem 11.2). Nếu không thoả mãn yêu cầu về độ lặp lại, huỷ bỏ kết quả và tiến hành hai phép xác định mới trên các phần mẫu thử lấy từ cùng một mẫu thử.

11 Độ chính xác

11.1 Kết quả thử của liên phòng thí nghiệm

Một thử nghiệm của liên phòng thí nghiệm do IUPAC thực hiện năm 1985, trong đó mỗi phòng thí nghiệm tiến hành các phép xác định kép, cho các kết quả thống kê trong bảng 2 (phù hợp với ISO 5725) ³⁾.

11.2 độ lặp lại

Kết quả của hai lần thử riêng rẽ, độc lập thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, tiến hành trên cùng vật liệu trong phòng thí nghiệm, do một người phân tích dùng một loại dụng cụ, tiến hành trong khoảng thời gian ngắn, phải nằm trong phạm vi của các giá trị trung bình trong bảng 2, chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử thu được không vượt quá giới hạn lặp lại được quy về nội suy tuyến tính từ số liệu trong bảng 2.

Chú thích 8 - Nên chú ý rằng, các giá trị về độ tái lập R trong bảng 2 áp dụng trong trường hợp đặc biệt, khi so sánh các kết quả xác định độc lập thu được bởi hai phòng thí nghiệm. Khi thực hiện phương pháp đã mô tả và tốt nhất là so sánh các kết quả cuối cùng (các kết quả này thu được từ các phép xác định kép) thu được bởi hai phòng thí nghiệm, các kết quả R nên được đổi về xác suất 95% các giá trị tới hạn khác nhau, CrD₉₅ có thể áp dụng cho trung bình của các lần xác định dùng công thức sau:

$$CrD_{95} = \sqrt{(R^2 - r^2 / 2)}$$

12 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải chỉ rõ :

- phương pháp lấy mẫu (nếu biết);
- phương pháp đã sử dụng;
- các kết quả thử nghiệm thu được và
- nếu kiểm tra độ lặp lại, nêu kết quả cuối cùng thu được;

Báo cáo kết quả cũng phải đề cập đến tất cả các chi tiết cả các chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn, cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả

Báo cáo kết quả cũng bao gồm tất cả các thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử.

³⁾ ISO 5725 : 1986 - Độ chính xác của các phương pháp thử -Xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp thử chuẩn bằng các thử nghiệm của liên phòng thí nghiệm.

Bảng 2 - Các kết quả thống kê của thử nghiệm liên phòng thí nghiệm

Mẫu ¹⁾	1	2	3	4
Số phòng thí nghiệm	16	16	11	11
Số phòng thí nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	16	16	9	10
Giá trị trung bình của dư lượng hexan kỹ (mg/kg)	2,95	13,7	104	1048
Độ lệch chuẩn của độ lặp lại, sr (mg/kg)	0,65	1,70	7,6	71,5
Hệ số biến thiên của độ lặp lại (%)	22,4	12,2	7,3	6,8
Độ lặp lại, r = 2,83 sr (mg/kg)	1,8	4,8	21	202
Độ lệch chuẩn của độ tái lập, s _R (mg/kg)	2,6	4,1	28,4	293
Hệ số biến thiên của độ tái lập (%)	89	30	27	28
Độ tái lập, R=2,83 s _R (mg/kg)	7,4	12	80	829
Chú thích - Các số liệu đối với mẫu 1 cũng được tính đến mặc dù nằm ngoài phạm vi áp dụng của tiêu chuẩn này.				
1) Mẫu 1: dầu lạc thực phẩm mới chế biến + 3,3 ppm hexan kỹ thuật Mẫu 2 : dầu lạc mới chế biến đã bảo quản + 13,2 ppm hexan kỹ thuật Mẫu 3 : dầu hạt cải thô (đã ép)+100 ppm hexan kỹ thuật Mẫu 4 : dầu hạt cải thô (đã ép) +1000 ppm hexan kỹ thuật				