

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10108:2013

ISO 8420:2002

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CÁC HỢP CHẤT PHÂN CỰC**

Animal and vegetable fats and oils – Determination of content of polar compounds

HÀ NỘI - 2013

Lời nói đầu

TCVN 10108:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 8420:2002, và Đính chính kỹ thuật 1:2004;

TCVN 10108:2013 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 mỡ động vật và thực vật -

Xác định hàm lượng các hợp chất phân cực

Animal and vegetable fats and oils - Determination of content of polar compounds

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng các hợp chất phân cực trong dầu mỡ động vật và thực vật, được gọi là chất béo.

Các hợp chất phân cực được tạo thành trong quá trình gia nhiệt chất béo, do đó phương pháp này được dùng để đánh giá sự suy giảm chất lượng của chất béo dùng để rán.

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 6128:1996 (ISO 661:1989)¹⁾, *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:

3.1

Hợp chất phân cực (polar compounds)

Thành phần của chất béo xác định được bằng sắc ký cột dưới điều kiện qui định trong tiêu chuẩn này.

¹⁾ TCVN 6128:1996 (ISO 661:1989) đã hủy và được thay thế bằng TCVN 6128:2007 (ISO 661:2003).

TCVN 10108:2013

CHÚ THÍCH 1: Hàm lượng hợp chất phân cực được biểu thị bằng phần trăm khối lượng.

CHÚ THÍCH 2: Các hợp chất phân cực bao gồm các chất phân cực xuất hiện trong chất béo chưa sử dụng như monoglycerid, diglycerid và các axit béo tự do, cũng như các sản phẩm chuyển hóa phân cực tạo thành trong quá trình gia nhiệt ví dụ như trong quá trình rán thực phẩm. Các hợp chất không phân cực hầu hết là triglycerid còn nguyên.

4 Nguyên tắc

Phần mẫu thử được tách bằng sắc ký cột thành các hợp chất phân cực và không phân cực. Các hợp chất không phân cực được rửa giải rồi cân. Từ đó xác định được các hợp chất phân cực.

5 Thuốc thử và vật liệu

Chỉ sử dụng thuốc thử đạt chất lượng phân tích và nước cất hoặc nước đã loại khoáng hoặc nước có chất lượng tương đương.

5.1 Silica gel, cỡ hạt từ 0,063 mm đến 0,200 mm (70 mesh đến 230 mesh), ví dụ Merck số 7734²⁾, được chỉnh hàm lượng nước đến 5 % (khối lượng) như sau:

Lấy khoảng 180 g silica gel cho vào đĩa sứ. Sấy trong lò ở nhiệt độ (160 ± 5) °C ít nhất 4 h, thỉnh thoảng khuấy, sau đó làm nguội trong bình hút ẩm đến nhiệt độ phòng. Chỉnh hàm lượng nước của silica gel đến 5 % (khối lượng) bằng cách cho 152 g silica gel và 8 g nước vào bình định mức 500 ml. Đậy nắp bình và lắc trên máy lắc trong 60 min.

Bảo quản silica gel trong bình đậy kín khí. Silica gel đã ổn định cần phải sử dụng trong 24 h, vì silica gel không thể hoạt hóa lại và không phục hồi lại được.

5.2 Dung môi rửa giải, được chuẩn bị bằng cách trộn 87 phần thể tích dầu nhẹ có chất lượng dùng cho sắc ký (dải sôi từ 40 °C đến 60 °C) và 13 phần thể tích dietyl ete đã ổn định (xem cảnh báo trong 9.4.6).

5.3 Cát, đã được rửa bằng axit và đã nung.

5.4 Bông vải, có chất lượng dùng trong y tế, không thấm nước.

5.5 Nitơ, có độ tinh khiết từ 99,0 % đến 99,8 %.

²⁾ Marck số 7734 là sản phẩm có bán sẵn được cung cấp bởi Merck. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và tiêu chuẩn không ấn định phải sử dụng chúng. Có thể sử dụng các sản phẩm tương tự nếu cho kết quả tương đương.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

- 6.1 Bình thủy tinh đáy tròn hoặc đáy phẳng, có cổ thủy tinh mài, dung tích 250 ml.
- 6.2 Cột sắc ký, bằng thủy tinh, đường kính trong 21 mm và dài 450 mm, có khóa (tốt nhất được làm bằng polytetrafluoroetylen) và có khớp nối thủy tinh mài ở đỉnh.
- 6.3 Phễu nhỏ giọt, dung tích 250 ml có khớp nối thủy tinh mài lắp khít với đỉnh của cột (6.2).
- 6.4 Đũa thủy tinh, dài khoảng 600 mm.
- 6.5 Bộ cô quay, hoặc thiết bị khác để loại bỏ dung môi trong điều kiện chân không.
- 6.6 Máy lác.

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 hoặc vận chuyển.

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

8 Chuẩn bị mẫu thử

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

Mẫu dạng chất bán rắn và rắn được làm nóng đến nhiệt độ cao hơn điểm nóng chảy của mẫu và được trộn cẩn thận. Tránh để quá nhiệt. Sau khi trộn, lọc để loại bỏ các chất bẩn quan sát được. Nếu mẫu có nước thì phải sử dụng bộ lọc không dính nước.

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị cột

Đặt một miếng bông vải (5.4) vào phần dưới của cột (6.2), dùng đũa thủy tinh (6.4) ấn xuống. Rót khoảng 30 ml dung môi rửa giải (5.2) lên trên cột và loại khí bằng cách dùng đũa thủy tinh ấn miếng bông vải xuống.

Chuẩn bị 25 g silica gel (5.1) dạng hồ nhão trong khoảng 80 ml dung môi rửa giải trong cốc có mỏ và rót lên trên cột, sử dụng phễu. Tráng cốc có mỏ với dung môi rửa giải rồi chuyển hết silica gel vào cột.

TCVN 10108:2013

Mở khóa và để chảy hết dung môi rửa giải cho đến khi mức dung môi rửa giải còn khoảng 100 mm trên lớp silica gel. Gõ cột để dàn bằng lớp silica gel.

Cho thêm khoảng 4 g cát (5.3) qua phễu. Tháo dung môi rửa giải phía trên đến khoảng 10 mm cao hơn lớp cát.

Loại bỏ dung môi rửa giải đã sử dụng để chuẩn bị cột.

9.2 Đánh giá hiệu quả của cột

Nếu cần, đánh giá hiệu quả của cột theo Phụ lục A.

9.3 Phần mẫu thử

Cân khoảng $(2,5 \pm 0,1)$ g mẫu thử (Điều 8), chính xác đến 0,001 g, cho vào bình định mức 50 ml.

9.4 Xác định

9.4.1 Hòa tan phần mẫu thử (9.3) trong khoảng 20 ml dung môi rửa giải (5.2) bằng cách làm ấm nhẹ. Để nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng đến 50 ml bằng dung môi rửa giải.

9.4.2 Dùng pipet, chuyển 20 ml dung dịch mẫu thử (9.4.1) vào cột đã chuẩn bị (9.1). Tránh làm xáo trộn bề mặt cát.

9.4.3 Cân bình định mức 250 ml đã sấy khô trước ở nhiệt độ (103 ± 2) °C và làm nguội trong bình hút ẩm, chính xác đến 0,001 g rồi đặt dưới đầu ra của cột.

9.4.4 Mở khóa và tháo dung môi đến mức ngang bằng đỉnh lớp cát, thu lấy dịch rửa giải (có chứa hợp chất không phân cực) vào bình định mức 250 ml.

9.4.5 Tiếp tục rửa giải các hợp chất không phân cực bằng cách thêm 150 ml dung môi rửa giải (5.2) qua phễu nhỏ giọt (6.3). Chỉnh tốc độ dòng sao cho 150 ml đi qua cột trong khoảng từ 60 min đến 70 min.

Sau khi kết thúc rửa giải, dùng pipet hoặc dụng cụ nhỏ giọt lấy dung môi rửa giải để rửa hết chất bám dính ở đầu ra của cột cho vào bình định mức.

Nếu cần các hợp chất phân cực, ví dụ để kiểm tra hiệu quả của cột thì có thể rửa giải các hợp chất phân cực bằng 150 ml dietyl ete theo qui trình trong 9.4.5 và 9.4.6.

Loại bỏ silica gel sau khi kết thúc rửa giải.

9.4.6 Dùng bộ cô quay (6.5) và nồi cách thủy được kiểm soát nhiệt độ thấp hơn 60 °C để loại bỏ dung môi ra khỏi bình định mức dưới chân không thấp. Tránh thất thoát do tạo bọt. Dùng khí nitơ để đuổi hết dung môi.

CẢNH BÁO – Peroxit dễ nổ có thể hình thành trong dietyl ete. Do đó, cần sử dụng dietyl ete ổn định và cho bay hơi ở nhiệt độ càng thấp càng tốt, cẩn thận thu lấy ete bay hơi.

Nếu không có sẵn bộ cô quay thì làm bay hơi dung môi rửa giải dưới dòng khí nitơ.

9.4.7 Sấy bình định mức trong tủ sấy ở nhiệt độ (103 ± 2) °C trong 30 min. Làm nguội bình định mức trong bình hút ẩm và cân chính xác đến 1 mg.

Sấy lại 30 min trong cùng điều kiện, để nguội và cân.

Chênh lệch giữa hai lần cân không được quá 1 mg. Nếu vượt quá, lặp lại quá trình sấy, làm nguội và cân cho đến khi chênh lệch giữa hai lần cân liên tiếp không quá 1 mg. Ghi lại khối lượng cuối cùng của bình định mức.

Nếu có sự tăng đáng kể về khối lượng (trên 1 mg) thì có thể đã xảy ra quá trình ôxi hóa dầu rán. Trong trường hợp này, lấy khối lượng thấp nhất để tính kết quả.

9.5 Số phép xác định

Tiến hành hai phép xác định trên các phần thử (9.3) được lấy từ cùng một mẫu thử (Điều 8).

10 Biểu thị kết quả

Hàm lượng của các hợp chất phân cực, w , tính bằng phần trăm khối lượng, theo Công thức:

$$w = 100 - \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m}$$

Trong đó:

m_1 là khối lượng của bình định mức với khối lượng của các hợp chất không phân cực (9.4.7), tính bằng gam (g);

m_2 là khối lượng của bình định mức rỗng (9.4.3), tính bằng gam (g);

m là khối lượng phần mẫu thử trong 20 ml dung dịch mẫu (9.4.1); tính bằng gam (g); trong trường hợp này là 2/5 của 2,5 g.

Lấy kết quả là trung bình cộng của hai phép xác định với điều kiện đáp ứng được các yêu cầu về độ lặp lại (xem 11.2).

Biểu thị kết quả đến một chữ số thập phân.

11 Độ chụm

11.1 Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Các chi tiết của phép thử liên phòng thử nghiệm 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 chất nền 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 nghiệm độc lập, đơn lẻ 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 giới hạn lặp lại r nêu trong Phụ lục B.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu giống 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 giới hạn tái lập R nêu trong Phụ lục B.

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;
- 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;
- các kết quả thu được hoặc nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Đánh giá hiệu quả của cột

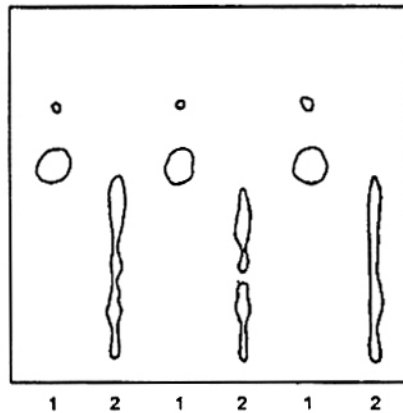
Hiệu quả của cột có thể được kiểm tra bằng cách sử dụng sắc ký lớp mỏng như sau:

Chuẩn bị các dung dịch 10 % (phần khối lượng) của các hợp chất phân cực và không phân cực (đã tách trong 9.4) trong cloroform và chấm các điểm 2 μ l vào tấm sắc ký được phủ một lớp dày silica gel 0,25 mm và không có chất chỉ thị huỳnh quang.

Xếp giấy lọc trong bể triển khai để đạt bão hòa. Đặt tấm sắc ký vào bể triển khai và tiến hành xác định bằng dung môi triển khai gồm có hỗn hợp dầu nhẹ (dải sôi từ 40 °C đến 60 °C), dietyl ete và axit axetic 100 % (70 + 30 + 2 phần thể tích). Để dung môi lên đến khoảng 170 mm; thường mất khoảng 35 min. Lấy tấm sắc ký ra và cho dung môi bay hơi.

Phun tấm sắc ký bằng dung dịch axit 12-molybdophosphoric 100 g/l trong etanol. Để etanol bay hơi và sau đó sấy tấm sắc ký trong tủ sấy ở nhiệt độ từ 120 °C đến 130 °C.

Hiệu quả của việc tách có thể cũng được đánh giá bằng cách so sánh tổng của các hợp chất phân cực và không phân cực xác định được với phần mẫu thử chứa trong 20 ml dung dịch thử (9.4.1). Đối với các mẫu chứa các lượng chất phân cực lớn thì độ thu hồi của phần mẫu thử có thể không hoàn toàn vì các lượng nhỏ các chất phân cực cao (thường không lớn hơn 1 % đến 2 %) không rửa giải được trong các điều kiện qui định trong tiêu chuẩn này.



CHÚ DẪN

- 1 Các hợp chất không phân cực
- 2 Các hợp chất phân cực

Hình A.1 – Sắc đồ thu được sau khi tách dầu mỡ để rán thành các hợp chất phân cực và các hợp chất không phân cực

Phụ lục B

(Tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Phép thử cộng tác quốc tế bao gồm 16 phòng thử nghiệm của 6 quốc gia tiến hành thử nghiệm trên năm mẫu dầu rán.

Phép thử được DIN tổ chức năm 2000 và các kết quả thu được đã phân tích thống kê theo TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) cho dữ liệu về độ chụm nêu trong Bảng B.1.

Bảng B.1 – Kết quả phân tích thống kê

	Mẫu				
	A	B	C	D	E
Số phòng thử nghiệm tham gia	15	16	15	15	16
Số phòng thử nghiệm giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	13	13	11	14	10
Số kết quả thử riêng rẽ của tất cả các phòng thử nghiệm trên cùng mẫu thử	26	26	22	28	20
Giá trị trung bình, %	16,01	22,28	11,74	32,06	20,80
Độ lệch chuẩn lặp lại, (s_r)	0,27	0,29	0,34	0,33	0,14
Hệ số biến thiên lặp lại, %	1,7	1,3	2,9	1,0	0,7
Giới hạn lặp lại, (r)	0,74	0,81	0,95	0,92	0,38
Độ lệch chuẩn tái lập, (s_R)	1,04	1,29	0,56	1,66	0,61
Hệ số biến thiên tái lập, %	6,5	5,8	4,8	5,2	3,0
Giới hạn tái lập, (R)	2,92	3,61	1,58	4,64	1,72

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 2625 (ISO 5555) *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu*
 - [2] TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994) *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 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994) *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.*
-