

TCVN 6123-1 : 1996

ISO 3596-1 : 1988 (E)

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH CHẤT KHÔNG XÀ PHÒNG HÓA**

**Phần 1: PHƯƠNG PHÁP DÙNG CHẤT CHIẾT
DIETYL ETÉ (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

Animal and vegetable fats and oils - Determination of unsaponifiable matter

Part 1: Method using diethyl ether extraction (reference method)

Lời nói đầu

TCVN 6123-1 : 1996 hoàn toàn tương đương với ISO 3569-1 : 1988 (E);

TCVN 6123-1 : 1996 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 chất không xà phòng hóa

Phần 1: Phương pháp dùng chất chiết dietyl ete (phương pháp chuẩn)

Animal and vegetable fats and oils - Determination of unsaponifiable matter

Part 1: Method using diethyl ether extraction (reference method)

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp chuẩn dùng dietyl ete để chiết nhằm xác định hàm lượng chất không xà phòng hóa của dầu mỡ động vật và thực vật.

Phương pháp không áp dụng cho các chất sáp. Phương pháp này cho kết quả gần đúng đối với các loại mỡ có hàm lượng chất không xà phòng hóa cao, thí dụ đối với các loại mỡ được chiết từ các loại động vật biển.

Phụ lục A mô tả phương pháp sử dụng chiết xuất n-hexan, cho các kết quả giống nhau đối với nhiều loại dầu mỡ của động vật, thực vật, nhưng do sự khác nhau về tính hòa tan của một số thành phần của chất không xà phòng hóa, trong hai dung môi, cho các kết quả có thể khác nhau, phương pháp hexan cho kết quả thấp hơn, phương pháp hexan có thể dùng khi các điều kiện khí hậu hoặc các qui định không cho phép dùng dietyl ete.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

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

ISO 5555 : 1991 Dầu mỡ động vật và thực vật. Lấy mẫu.

3 Định nghĩa

Áp dụng các định nghĩa sau đây cho tiêu chuẩn này.

Chất không xà phòng hóa: tất cả các chất tồn tại trong sản phẩm, sau khi đã xà phòng hóa bởi kali hidroxit (KOH) và chiết bởi dung môi qui định không bay hơi dưới các điều kiện thao tác đã được qui định.

Chú thích – Chất không xà phòng hóa bao gồm các lipit có nguồn gốc tự nhiên như sterol, các hydro cacbon, có mạch cacbon cao, các loại cồn, cồn bão hòa, cồn terpenic, cũng như các chất hữu cơ lạ được chiết bằng dung môi và không bay hơi ở 103°C (các loại dầu khoáng) có thể tồn tại.

4 Nguyên tắc

Xà phòng hóa dầu hoặc mỡ bằng cách đun sôi dưới dạng hồi lưu với dung dịch kali hidroxit trong etanol, chiết chất không xà phòng hóa từ dung dịch xà phòng bằng dietyl ete cho bay hơi dung môi và cân phần còn lại sau khi đã sấy khô.

5 Thuốc thử

Tất cả các loại thuốc thử phải thuộc loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng là nước cất hoặc nước có độ sạch tương đương.

5.1 Dietyl ete mới chưng cất không có peroxit và cặn.

5.2 Axeton.

5.3 Kali hidroxit, dung dịch trong etanol, $c(\text{KOH}) = 1 \text{ mol/l}$.

Hòa tan 60 g kali hidroxit (KOH) trong 50 ml nước và pha loãng tới 1 000 ml bằng etanol 95% (V/V). Dung dịch phải không màu hoặc màu vàng nhạt.

5.4 Kali hidroxit (KOH) dung dịch nước, $c(\text{KOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$.

5.5 Dung dịch phenonphtalein 10 g/l trong etanol 95% (V/V).

6 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị thông thường của phòng thí nghiệm và :

6.1 Bình cầu đáy tròn dung tích 250 ml, có cổ mài.

6.2 Bộ sinh hàn có chỗ nối mài gắn khít với bình (6.1).

6.3 Phễu chiết có dung tích 500 ml, có vòi khóa và nút làm bằng polytetrafluoroetylen.

6.4 Nồi cách thủy.

6. Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ ở $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

7 Lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu theo ISO 5555 : 1991.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử được chuẩn bị theo TCVN 6128 : 1996 (ISO 661 : 1989).

9 Tiến hành thử

9.1 Phần mẫu thử

Cân 5 g mẫu thử chính xác đến 0,01 g (điều 8) cho vào bình 250 ml (6.1).

9.2 Xà phòng hóa

Thêm 50 ml dung dịch kali hidroxit (5.3) và thêm vài hạt chống trào, gắn bộ sinh hàn (6.2) vào bình (6.1) và đun sôi nhẹ trong 1 giờ. Ngừng đun và thêm 100 ml nước từ phía trên bình sinh hàn và xoay.

Chú thích – Nếu như chiết chất không xà phòng hóa với mục đích xác định thành phần tocopherol thì việc thêm pyrogalol là cần thiết, chiết phải hoàn thành nhanh (trong vòng 30 phút).

9.3 Chiết chất không xà phòng hóa

Sau khi làm nguội chuyển dung dịch sang phễu chiết 500 ml (6.3). Rửa bình và chất chống trào vài lần với dietyl ete (5.1), dùng tất cả 100 ml và rót nước rửa sang phễu chiết. Đậy nút và lắc đều liên tục trong vòng 1 phút. Điều chỉnh khóa vòi của phễu chiết theo chu kỳ.

Để yên tĩnh đến khi hai pha được tách ra hoàn toàn, sau đó rót lớp lắng bên dưới vào phễu chiết thứ 2.

Chú thích – Nếu hình thành thể nhũ thì phải phá huỷ nó bằng cách thêm một lượng nhỏ etanol hoặc kali hidroxit đậm đặc hoặc dung dịch natri clorua.

Chiết dung dịch xà phòng etanol nước hai lần, mỗi lần theo cùng một phương thức với 100 ml dietyl ete. Gộp ba dịch chiết của ete vào một phễu chiết có chứa 40 ml nước.

9.4 Rửa phần chiết ete

Xoay nhẹ phễu chiết chứa các chất hỗn hợp và 40 ml nước.

Chú thích – Lắc mạnh trong giai đoạn này là nguyên nhân tạo nên thể nhũ.

Để cho các lớp tách riêng hoàn toàn, tháo bỏ lớp nước phía dưới. Rửa dung dịch ete hai lần, mỗi lần 40 ml nước, lắc mạnh, mỗi lần như vậy loại bỏ lớp nước thấp hơn sau khi tách và mỗi lần chừa lại 2 ml sau đó xoay phễu chiết quanh trục của nó. Đợi vài phút để giữ lớp nước còn lại. Hút hết nước đó, đóng khóa vòi, khi dung dịch ete vừa chạm tới khóa vòi.

Rửa dung dịch ete với 40 ml dung dịch kali hidroxit (5.4), 40 ml nước và rửa lại với 40 ml dung dịch kali hidroxit, sau đó rửa ít nhất là 2 lần với 40 ml nước. Tiếp tục rửa với nước đến khi nước rửa không còn màu hồng, khi thêm một giọt phenonphtalein (5.5).

9.5 Cho bay hơi dung môi

Chuyển lượng dung dịch ete mỗi lần một ít qua đỉnh phễu chiết sang bình 250 ml (6.1) đã sấy khô trong tủ sấy ở nhiệt độ $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (6.5), được làm nguội và cân chính xác đến 0,1 mg. Cho bay hơi dung môi trong

(4) và (5.1).

9.6 Sấy phần còn lại và xác định

Sấy phần còn lại trong tủ sấy (6.5) ở $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 15 phút với bình được để ở trạng thái nằm ngang. Làm nguội trong bình hút ẩm và cân chính xác đến 0,1 mg. Lập lại chu kỳ sấy 15 phút đến khi sự chênh lệch của khối lượng giữa hai lần cân liên tiếp nhỏ hơn 1,5 mg. Nếu như khối lượng không đổi không thu được sau hai lần sấy thì chất không xà phòng hóa có thể bị nhiễm bẩn và phải xác định lại.

1) Nếu có thể được, có thể dùng máy quay li tâm chân không, đặc biệt nếu như chất không xà phòng hóa, phải được xác định tiếp;

2) Nếu cần thiết điều chỉnh lại axit béo tự do sau khi cân phần còn lại, hòa tan trong 4 ml dietyl ete (5.1) và sau đó thêm 20 ml etanol đã được trung hòa tới màu hồng nhạt, khi thêm vài giọt phenonphtalein (5.4) như chất chỉ thị. Chuẩn độ với dung dịch natri hidroxit (KOH) trong etanol chuẩn, $c(\text{KOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$, cho tới cùng một màu. Tính khối lượng axit béo tự do như axit oleic và điều chỉnh khối lượng của phần còn lại tương ứng (xem điều 10).

9.7 So phép xác định

Thực hiện hai phép xác định trên cùng một mẫu thử.

9.8 Thử mẫu trắng

Tiến hành thử mẫu trắng cùng một trình tự và cùng một lượng của các loại thuốc thử, nhưng bỏ qua phần mẫu thử. Nếu phần còn lại lớn hơn 1,5 mg, thì xem xét lại phần thao tác kỹ thuật và thuốc thử.

10 Điều trị kết quả

Hàm lượng chất không xà phòng hóa tính theo phần trăm (%) khối lượng của mẫu thử được tính bằng công thức:

$$\frac{100 (m_1 - m_2 - m_3)}{m_0}$$

m_0 là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam;

m_1 là khối lượng phần còn lại của mẫu thử, tính bằng gam;

m_2 là khối lượng phần còn lại thu được của mẫu trắng, tính bằng gam;

m_3 là khối lượng của axit béo tự do nếu có (xem 9.6), (chú thích 2) và bằng 0,28 Vc

trong đó

- V là thể tích của dung dịch chuẩn kali hidroxit trong etanol đã dùng để chuẩn độ, tính bằng mililit;
- c là nồng độ lần phần chiết của dung dịch chuẩn kali hidroxit trong etanol, tính bằng mol trên lít.

Kết quả là trung bình cộng của hai phép xác định.

11 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải chỉ ra phương pháp đã sử dụng và kết quả đã thu được đồng thời phải đề cập đến tất cả các chi tiết thao tác mà không ghi trong tiêu chuẩn này, hoặc tất cả các chi tiết bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

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

Phụ lục A

(tham khảo)

Phương pháp dùng chất chiết *n*-hexan

A.1 Nguyên tắc

Xà phòng hóa dầu hoặc mỡ bằng cách đun sôi hồi lưu với dung dịch kali hidroxit trong etanol. Chiết chất không xà phòng hóa từ dung dịch xà phòng bằng hexan hoặc thiếu nó thì dùng xăng nhẹ; cho bay hơi dung môi và cân phần còn lại sau khi sấy khô.

A.2 Thuốc thử

Thuốc thử phải thuộc loại tinh khiết phân tích. Dùng nước cất hoặc nước có độ sạch tương đương.

A.2.1 *n*-hexan hoặc dùng xăng nhẹ chung cất ở nhiệt độ từ 40°C đến 60°C, chỉ số brom nhỏ hơn 1. Cả hai dung môi phải không có cặn.

A.2.2 Etanol 50% (V/V) trung tính với phenonphtalein (không màu).

A.2.3 Kali hidroxit, dung dịch trong etanol, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$ được chuẩn bị như sau:

Hòa tan 60 g kali hidroxit trong etanol 95% (V/V) và pha loãng tới 250 ml. Dung dịch phải không màu hoặc màu vàng nhạt.

A.2.4 Kali bicacbonat, dung dịch nước 10 g/l.

A.2.5 Phenonphtalein, dung dịch 10 g/l trong etanol 95% (V/V).

A.3 Thiết bị

Sử dụng các thiết bị thông thường trong phòng thí nghiệm và :

A.3.1 Bình cầu dung tích 250 ml, cổ mài.

A.3.2 Bộ sinh hàn có chỗ nối mài gắn khít với bình (A.3.1)

A.3.3 Bộ phễu chiết có dung tích 250 ml và 1 000 ml có vòi khóa và có nút làm bằng polytetrafluotylen.

A.3.4 Nồi cách thủy.

A.3.5 Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hoặc các thiết bị sấy chân không, các thiết bị bay hơi, hoặc thiết bị tương tự.

A.4 Lấy mẫu

Tiến hành lấy mẫu theo ISO 5555 : 1991.

A.5 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử được chuẩn bị theo TCVN 6128 : 1996 (ISO 661 : 1989).

A.6 Tiến hành thử

A.6.1 Phần mẫu thử

Cân khoảng 5 g mẫu thử chính xác đến 0,01 g (điều A.5) cho vào bình 250 ml (A.3.1).

A.6.2 Xà phòng hóa

Thêm 25 ml dung dịch kali hidroxit (A.2.3) và chất chống trào, gắn bộ sinh hàn (A.3.2) với bình cầu và đun sôi nhẹ trong 1 giờ, sau đó ngừng đun, thêm 50 ml dung dịch kali bi cacbonat (A.2.4) qua đỉnh của bình sinh hàn và xoay.

Chú thích – Nếu chiết chất không xà phòng hóa để xác định thành phần của tocopherol. Thì cần phải thêm pyrogalol và việc chiết nên kết thúc nhanh (trong 30 phút).

A.6.3 Chiết chất không xà phòng hóa

Sau khi làm nguội chuyển dung dịch sang phễu chiết 250 ml (A.3.3), tráng bình cầu và chất chống trào vài lần với hexan (A.2.1), dùng tất cả 50 ml và rót nước tráng này sang phễu chiết. Đậy nút rồi lắc mạnh trong vòng 1 phút, giảm áp suất bằng cách đảo ngược phễu chiết và thận trọng mở khóa vòi.

Để yên đến khi dung dịch được tách hoàn toàn làm hai lớp. Tháo lớp dưới sang phễu chiết thứ hai.

Chú thích – Nếu dung dịch hình thành thể nhũ thì phải phá vỡ bằng cách thêm vài giọt etanol hoặc dung dịch kali hidroxit đậm đặc hoặc dung dịch natri clorua.

Chiết dung dịch xà phòng etanol thể nước ít nhất 8 lần hoặc nhiều hơn thế, tất cả theo cùng một phương pháp với 50 ml hexan. Gạn nước thật nhanh. Gộp phần chiết bằng n-hexan vào phễu chiết dung tích 1 000 ml (A.3.3).

A.6.4 Rửa phần chiết hexan

Rửa phần chiết hỗn hợp ba lần với khoảng 150 ml etanol 50% (V/V) (A.2.2) mỗi lần rửa phải lắc mạnh và đổ dung dịch etanol thể nước sau mỗi lần rửa, mỗi lần như vậy để 2 ml nước rửa, sau đó quay phễu chiết xung quanh trục của nó. Đợi vài phút cho lớp nước còn lại dồn lại hết. Tháo, đóng khóa vòi khi dung dịch hexan vừa chạm đến vòi khóa.

Tiếp tục rửa bằng etanol 50% (V/V) (A.2.2) đến khi nước rửa không còn màu hồng khi thêm vài giọt phenonphtalein (A.2.5).

A.6.5 Cho bay hơi dung môi

Chuyển dần dần lượng dung dịch hexan qua đỉnh của phễu chiết sang bình cầu 250 ml (A.3.1) đã được sấy khô trong tủ sấy (A.3.5) ở nhiệt độ $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, được làm nguội và cân chính xác tới $\pm 0,1$ mg, cho bay hơi dung môi trong nối cách thủy (A.3.4).

A.6.6 Sấy khô phần còn lại và xác định

Sấy khô phần còn lại trong tủ sấy ở nhiệt độ $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ trong 15 phút, với bình cầu để ở tư thế nằm ngang, làm nguội trong bình hút ẩm và cân chính xác đến $\pm 0,1$ mg.

Gắn bình cầu với thiết bị làm khô bằng chân không (A.3.5) và sấy khô trong nối cách thủy ở độ chân không lớn nhất của bơm hút chân không trong khoảng 15 phút. Làm nguội đến nhiệt độ của phòng dưới độ chân không lớn nhất. Lau bình và cân chính xác đến 0,1 mg.

Lặp lại chu kỳ sấy 15 phút, đến khi sự chênh lệch của khối lượng giữa hai lần cân liên tiếp nhỏ hơn 1,5 mg. Nếu như không nhận được khối lượng không đổi giữa ba lần sấy, chất không xà phòng hóa có thể bị nhiễm bẩn và phải xác định lại.

Chú thích – Nếu cần thiết chỉnh lại lượng xà phòng, sau khi cân phần còn lại hòa tan trong 20 ml axeton (chứa 2% nước (V/V)). Trước đó đã trung hòa tới màu vàng nhạt, dùng chất chỉ thị xanh bromophenol. Chuẩn độ với dung dịch chuẩn axit clohydric. $c(\text{HCl}) = 0,01 \text{ mol/l}$ (đã được chuẩn bị sẵn bằng cách pha loãng dung dịch nước $0,1 \text{ mol/l}$ với axeton) cho tới cùng một mẫu.

Tính khối lượng xà phòng và hiệu chỉnh phần cặn cho phù hợp (xem điều A.7).

A.6.7 Số phép xác định

Tiến hành làm hai phép xác định trên cùng một mẫu thử.

A.6.8 Thử mẫu trắng

Tiến hành thử mẫu trắng theo cùng một trình tự, cùng lượng tất cả các loại thuốc thử, nhưng bỏ qua phần mẫu thử. Nếu phần còn lại sau khi thử lớn hơn 1,5 mg, thì xem xét lại phần thao tác kỹ thuật và thuốc thử.

A.7 Biểu thị kết quả

Hàm lượng chất không xà phòng hóa tính theo phần trăm khối lượng mẫu thử, được tính bằng công thức:

$$\frac{100 (m_1 - m_2 - m_3)}{m_0}$$

trong đó

m_0 là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam;

m_1 là khối lượng phần còn lại của mẫu thử, tính bằng gam;

m_2 là khối lượng phần còn lại của mẫu trắng, tính bằng gam;

m_3 là khối lượng của xà phòng tính bằng gam, nếu có (xem A.6.6 chú thích) và bằng 0,32 Vc

trong đó

V là thể tích của dung dịch chuẩn axit clohydric dùng để chuẩn độ, tính bằng mililit;

c là nồng độ phần chiết của dung dịch chuẩn axit clohydric.

Kết quả là trung bình cộng của hai phép xác định.

A.8 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải chỉ ra phương pháp đã sử dụng và kết quả đã thu được, nó phải đề cập đến tất cả các chi tiết thao tác mà không có trong phần phụ lục này hoặc tất cả các chi tiết bất thường khác mà ảnh hưởng đến kết quả.

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