

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10483 : 2014

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT SÁP BẰNG SẮC KÝ KHÍ**

Vegetable fats and oils –

Determination of wax content by gas chromatography

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

TCVN 10483:2014 hoàn toàn tương đương với ISO 23647:2010;

TCVN 10483:2014 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

Dầu mỡ thực vật bao gồm chủ yếu các triacyglyxerol, nhưng cũng chứa lượng nhỏ các hợp chất không phải glyxerit thường gọi là các thành phần phụ. Thành phần của các thành phần phụ này (ví dụ: sterol, steryl este, triterpen dialcohol và chất sáp) cung cấp các thông tin rất đặc trưng về việc nhận biết các loại dầu. Do các biện pháp vật lý và biện pháp hóa học trong quá trình chế biến dầu mỡ thực vật có thể làm thay đổi thành phần và hàm lượng của chúng nên việc phân tích các thành phần phụ có thể áp dụng thích hợp để đặc trưng cho quá trình chế biến dầu.

Chất sáp là các hợp chất tự nhiên có mặt trong các loại dầu thực vật khác nhau và có thể dễ dàng kết tinh ở nhiệt độ thấp dẫn đến tình trạng bị vẩn đục. Loại bỏ sáp thường là một phần trong quá trình tinh luyện dầu thực vật (ví dụ: dầu hướng dương, dầu cám gạo, dầu ngô) và cần phải đo hiệu quả của quá trình này.

Tiêu chuẩn này không bao gồm phép phân tích chất sáp dầu oliu.

Với dầu oliu, hiện nay chưa có phương pháp chính thức đáng tin cậy để đo hàm lượng chất sáp và thành phần của dầu mỡ thực vật. Phép thử lạnh không cho các kết quả định tính và định lượng; phương pháp được xây dựng cho dầu oliu không áp dụng cho dầu lấy từ hạt và có thể gây ra nhiều vấn đề trong việc diễn giải các kết quả. Cần có tiêu chuẩn quốc tế áp dụng cho dầu mỡ thực vật thô, dầu mỡ thực vật tinh luyện, dầu mỡ thực vật đã loại sáp sơ bộ, dầu mỡ thực vật đông lạnh và dầu mỡ thực vật tinh luyện hoàn toàn.

Chất sáp từ các loại dầu mỡ thực vật khác nhau được tách khỏi các triacyglyxerol và các hợp chất không phải là glyxerit khác chứa liên kết đôi bằng sắc kí cột sử dụng cột nhồi hỗn hợp có chứa silica gel và silica gel tẩm $AgNO_3$.

Phân chất sáp tiếp đó được phân tích bằng sắc kí khí mao quản. Phương pháp này cũng cho thông tin về hàm lượng các chất sáp tổng số và thành phần của chúng. Sử dụng các thông tin trong phương pháp này có thể dễ dàng kiểm tra chất lượng dầu cũng như theo dõi hiệu quả của quá trình loại bỏ chất sáp.

Dầu mỡ thực vật - Xác định hàm lượng chất sáp bằng sắc kí khí

Vegetable fats and oils - Determination of wax content by gas chromatography

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp sắc kí khí để xác định hàm lượng chất sáp trong dầu thực vật thô, dầu thực vật đã khử gum, dầu thực vật đã trung hòa, dầu thực vật đông lạnh và dầu thực vật tinh luyện như dầu hướng dương, dầu đậu nành, dầu hạt cải, dầu ngô và dầu cám gạo. Tiêu chuẩn này không áp dụng cho dầu oliu hoặc dầu bã oliu.

Chất sáp là este của axit béo và ancol béo mạch dài (có 20 nguyên tử cacbon hoặc mạch cacbon bão hòa dài hơn).

Hàm lượng chất sáp được tính bằng miligam trên kilogam dầu.

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 chất sáp (wax content)

Phần khối lượng các chất trong mẫu thử xác định được theo các điều kiện quy định trong tiêu chuẩn này

CHÚ THÍCH: Hàm lượng chất sáp được tính bằng miligam trên kilogam dầu.

4 Nguyên tắc

Tách chất sáp bằng sắc kí cột sử dụng cột nhồi hỗn hợp chứa silica gel và silica gel tẩm AgNO₃. Tiến hành xác định chất sáp bằng sắc kí khí mao quản (GC), sử dụng chất chuẩn nội đã bổ sung vào dầu từ trước.

5 Thuốc thử, vật liệu thử

CẢNH BÁO – Cần chú ý các quy định về việc xử lý các chất gây nguy hiểm. Cần tuân thủ các biện pháp an toàn kỹ thuật, an toàn đối với tổ chức và cá nhân .

Trong suốt quá trình phân tích, chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích dùng cho sắc kí cột HPLC, nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.1 *n*-Hexan.

5.2 Diclometan.

5.3 *n*-Heptan.

5.4 Cloroform.

5.5 Silica gel 60, cỡ hạt từ 0,063 mm đến 0,200 mm (từ 70 mesh đến 230 mesh), ví dụ: Merck Số 107734 ¹⁾

5.6 Bạc nitrat (AgNO₃).

5.7 Hexatriacontan ²⁾ (paraffin C₃₆).

5.7.1 Dung dịch chuẩn nội, nồng độ khối lượng 0,1 mg/ml trong *n*-heptan.

5.7.2 Chất chuẩn dùng để xác định hệ số đáp ứng, nồng độ khối lượng 1 mg/ml trong *n*-heptan.

5.8 Chất chuẩn dùng để nhận dạng pic trong sắc kí khí, chất sáp tinh khiết ³⁾, ví dụ: C₄₀ và C₄₄.

¹⁾ Merck Số 107734 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 và không ấn định sử dụng sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.

²⁾ Hexatriacontan có sẵn từ Sigma-Aldrich với độ tinh khiết tối thiểu 99 % khối lượng. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng nhà cung cấp này.

³⁾ Chất sáp tinh khiết ví dụ: este stearyl trong axit behenic (C₄₀), este stearyl trong axit stearic (C₃₆) và este behenyl trong axit behenic (C₄₄) có sẵn từ Sigma-Aldrich, độ tinh khiết khoảng 99 % khối lượng. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng nhà cung cấp này.

5.8.1 Chất chuẩn dùng để xác định hệ số đáp ứng, stearyl stearat hoặc este stearyl trong axit stearic (chất sáp C_{36}), nồng độ khối lượng 1 mg/ml trong cloroform.

5.9 Chất sáp hương dương đã kết tinh, được chuẩn bị bằng cách kết tinh bánh dầu hương dương đông lạnh hoặc dầu hương dương thô. Đối với quá trình chuẩn bị, xem Phụ lục C.

5.10 Bông sợi, loại dùng trong phẫu thuật, không thấm nước.

6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Cột sắc kí, bằng thủy tinh, đường kính trong 30 mm, dài 450 mm, được trang bị nắp polytetrafluetylen (PTFE).

6.2 Đũa thủy tinh, dài khoảng 600 mm.

6.3 Pipet Pasteur, đáp ứng yêu cầu của TCVN 7152 (ISO 7712) ⁽⁴⁾.

6.4 Bộ cô quay chân không.

6.5 Bình cầu đáy tròn, dung tích 250 ml (để thu phần chất sáp).

6.6 Bình hình quả lê, dung tích 25 ml (để thu phần chất sáp cô đặc).

6.7 Máy sắc kí khí, được trang bị detector ion hóa ngọn lửa, bơm mẫu chia dòng/không chia dòng, bộ ghi hoặc hệ thống thu nhận dữ liệu.

6.8 Cột mao quản silica nóng chảy, dài 25 m, đường kính trong 0,32 mm hoặc tốt nhất là 0,20 mm, được tráng dimethylpolysiloxan (ví dụ: HP-1 hoặc OV-1 hoặc loại tương đương), độ dày màng 0,11 μm .

7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 (ISO 5555) ⁽¹⁾.

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng 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).

Làm nóng mẫu phòng thử nghiệm đến 130 °C. Trộn đều mẫu để làm nóng chảy hoàn toàn các chất sáp dạng tinh thể và loại hết ẩm (có thể sử dụng máy khuấy từ hoặc lò vi sóng).

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị silica gel 60 tẩm bạc nitrat

Cho 100 g silica gel 60 (5.5) vào chén sứ. Rót dung dịch bạc nitrat có chứa 5 g AgNO_3 (5.6) đã hòa tan trong 240 ml nước vào silica gel, sau khi trộn kĩ, làm phẳng bề mặt dung dịch. Đặt huyền phù này vào tủ sấy điện, gia nhiệt đến $170\text{ }^\circ\text{C}$ và hoạt hóa gel qua đêm. Để nguội từ từ trong tủ sấy điện đến $50\text{ }^\circ\text{C}$ (ở nơi tối). Để cột nhồi này trong chai đã được đậy kín ở nơi tối. Loại bỏ các hạt màu đen ra khỏi bề mặt gel silica đã được tẩm, nếu cần.

Gel có chứa 5 % khối lượng AgNO_3 .

9.2 Cột nhồi

Dùng đĩa thủy tinh (6.2) cho nút bông (5.10) vào đầu dưới cột (6.1) rồi ấn xuống. Rót khoảng 30 ml *n*-hexan (5.1) vào cột và loại bỏ không khí bằng cách dùng đĩa ấn nút bông xuống. Cho lớp dung môi tầng khoảng từ 2 mm đến 3 mm trên nút bông để tráng rửa trước khi cho silica gel vào cột.

Cho 3 g silica gel đã tẩm (9.1) vào cột thủy tinh (6.1), loại bỏ tất cả không khí bị giữ lại và làm phẳng bề mặt. Thêm 12 g silica gel 60 (5.5) qua đỉnh cột nhồi trước rồi loại bỏ tất cả không khí và bảo vệ cột nhồi tránh ánh sáng. Rửa cột nhồi bằng khoảng 90 ml đến 100 ml *n*-hexan, loại bỏ tất cả bọt khí bằng cách gõ nhẹ, nếu cần. Nên mở khóa khi bổ sung dung môi làm sạch. Cho khoảng 5 mm lớp dung môi trên cột nhồi trước khi thêm dung dịch mẫu.

9.3 Tách các chất sáp

9.3.1 Chuẩn bị mẫu

Hỗn hợp dung môi A: *n*-hexan (5.1) và diclometan (5.2), phần thể tích của hexan $\varphi_{\text{C}_6\text{H}_{14}} = 95\text{ ml}/100\text{ ml}$ và diclometan $\varphi_{\text{CH}_2\text{Cl}_2} = 5\text{ ml}/100\text{ ml}$.

Cân mẫu theo hàm lượng chất sáp dự kiến (dầu hương dương: cân 3 g từ dầu thô và dầu trung tính, cân từ 4 g đến 4,5 g từ dầu tách sáp và dầu tinh luyện, các loại dầu khác: cân từ 4 g đến 4,5 g). Thêm 3 ml dung dịch chất chuẩn nội (5.7.1) và thêm 7 ml hỗn hợp dung môi A vào mẫu. Trộn kĩ và dùng pipet Pasteur (6.3) chuyển khoảng 2 ml dung dịch này vào cột.

Chỉnh tốc độ dòng từ 1,5 ml/min đến 2 ml/min và làm sạch mặt trong cột thủy tinh ba lần mỗi lần khoảng 3 ml hỗn hợp dung môi A. Không để cho cột chạy khô, cho khoảng 5 mm lớp dung môi trên cột nhồi trước khi thêm phần dung môi tiếp theo.

9.3.2 Cột sắc kí

Hỗn hợp dung môi B: *n*-hexan (5.1) và diclometan (5.2), phần thể tích của hexan, $\varphi_{C_6H_{14}} = 80 \text{ ml}/100 \text{ ml}$ và diclometan, $\varphi_{CH_2Cl_2} = 20 \text{ ml}/100 \text{ ml}$.

Rửa giải chất sáp bằng 190 ml dung môi B. Chỉnh tốc độ dòng đến khoảng 3 ml/min.

Thu toàn bộ vật liệu rửa giải từ cột vào bình cầu đáy tròn (6.5) và làm bay hơi dung môi bằng bộ cô quay chân không (6.4). Pha loãng phần cặn trong một lượng nhỏ cloroform (5.4), chuyển dung dịch vào bình hình quả lê (6.6), làm bay hơi dung môi lần nữa và hòa tan lại chất sáp trong khoảng 1 ml cloroform. Tiến hành phân tích GC dung dịch này.

9.4 Xác định chất sáp bằng sắc kí khí

9.4.1 Các điều kiện của sắc kí khí được khuyến cáo:

Cột: HP-1 (kích thước 25 mm × 0,20 mm, độ dày màng 0,11 μm);

Lò: 170 °C (0,1 min), từ 170 °C đến 350 °C (6 °C/min), đẳng nhiệt ở 350 °C (20 min);

Khí mang: H₂;

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min;

Bộ bơm mẫu: 355 °C, tỉ lệ chia dòng: 1:30;

Detector: 360 °C (FID);

Các điều kiện này có thể được điều chỉnh theo đặc tính của thiết bị sắc kí khí và cột để tách hết các hợp chất sáp.

9.4.2 Xác định hệ số đáp ứng

Trộn các thể tích bằng nhau các dung dịch chất chuẩn (5.7.2 và 5.8.1) và bơm 1 μl hỗn hợp vào GC để xác định hệ số đáp ứng, F_r

$$F_r = \frac{A_{IS} \rho}{A \rho_{IS}}$$

Trong đó:

A_{IS} là diện tích pic hexatriacontan (5.7.2);

A là diện tích pic stearyl stearat;

TCVN 10483:2014

ρ là nồng độ khối lượng stearyl stearat (5.8.1);

ρ_{IS} là nồng độ khối lượng hexatriacontan (5.7.2).

Giá trị F_r nên từ 1,1 đến 1,2. Để dung dịch này trong lọ đậy kín ở nơi tối và lặp lại phép xác định khi cần, thông thường một lần một tuần.

9.4.3 Tính hàm lượng chất sáp

Bơm từ 1,5 μ l đến 2 μ l dung dịch chất sáp (tách được theo 9.3) vào GC. Thứ tự rửa giải như sau: dung môi, hydrocacbon, chất chuẩn nội (hexatriacontan), chất sáp.

Nếu thực hiện đúng quá trình tách (9.3) thì phần chất sáp (đặc biệt là chất sáp hướng dương) phải cho đồ thị điển hình: diện tích pic giảm liên tiếp sau khi cho C_{48} (xem Hình A.1 và Bảng C.1). Tuy nhiên, các pic chồng lên nhau hoặc các pic lớn (ví dụ: các este sterol và các triglycerid) tại điểm cuối của vùng chất sáp có thể gây khó khăn trong quá trình phân tích dữ liệu. Trường hợp này, lặp lại phép xác định sắc kí cột (xem Hình A.4)

9.4.3.1 Dầu hướng dương

Thành phần chính trong chất sáp hướng dương là: các chất sáp C_{44} , C_{46} , C_{48} . Chất sáp hướng dương có chứa phần lớn các chất sáp có số nguyên tử cacbon chẵn ví dụ: C_{44} , C_{46} , C_{48} , C_{50} , C_{52} , C_{54} . Giữa các pic chính này, cũng có thể có các pic phụ có số nguyên tử cacbon lẻ. Tất cả các pic (pic chính và pic phụ) được sử dụng trong tính kết quả.

Việc tính toán dựa vào dãy các phép đo trước và tài liệu (Tài liệu tham khảo [5], [6], [7]). Hàm lượng chất sáp, w_1 được biểu thị bằng phần trăm khối lượng tính bằng milligam trên kilogam dầu, theo công thức:

$$w_1 = \frac{F_r \left[A_{>C_{44}} + (1+k) A_{C_{44}} \right] m_{IS}}{A_{IS} m}$$

Trong đó:

F_r là hệ số đáp ứng (9.4.2);

$A_{>C_{44}}$ là tổng diện tích pic tùy thuộc vào tất cả các chất sáp có nhiều hơn C_{44} ;

$A_{C_{44}}$ là diện tích pic chất sáp C_{44} ;

A_{IS} là diện tích pic hexatriacontan;

k là hệ số thực nghiệm ($k = 1,0$ đối với dầu tinh luyện và dầu đông lạnh, $k = 0,5$ đối với dầu không tinh luyện, xem Tài liệu tham khảo [5])

m_{IS} là khối lượng chất chuẩn nội đã bổ sung vào dầu, tính bằng microgam (μg);

m là khối lượng dầu, tính bằng gam (g).

9.4.3.2 Các loại dầu khác

Thành phần chất sáp chính của dầu thực vật (dầu đậu nành, dầu hạt cải và dầu ngô) là: các chất sáp C_{40} , C_{41} , C_{42} , C_{44} , C_{46} . Hàm lượng của chúng thường dưới 20 mg/kg trong dầu tinh luyện đã khử mùi. Trường hợp ngoại lệ dầu cám gạo thô có thể có hàm lượng chất sáp từ 1 500 mg/kg đến 2 000 mg/kg với thành phần tương tự hạt hướng dương.

9.4.3.2.1 Dầu cám gạo

Hàm lượng chất sáp, w_1 được biểu thị bằng phần khối lượng tính bằng milligam trên kilogam dầu, theo công thức:

$$w_1 = \frac{F_r (A_{\geq C_{42}} m_{IS})}{A_{IS} m}$$

Trong đó

F_r là hệ số đáp ứng (9.4.2);

$A_{\geq C_{42}}$ là tổng diện tích pic tùy thuộc vào tất cả các chất sáp có C_{42} và trên C_{42} ;

A_{IS} là diện tích pic hexatriacontan;

m_{IS} là khối lượng chất chuẩn nội đã bổ sung vào dầu, tính bằng microgam (μg)

m là khối lượng dầu, tính bằng gam (g).

9.4.3.2.2 Các loại dầu khác (dầu đậu nành, dầu hạt cải, dầu ngô)

Hàm lượng chất sáp, w_1 được biểu thị bằng phần khối lượng tính bằng milligam trên kilogam dầu, theo công thức:

$$w_1 = \frac{F_r [A_{>C_{44}} + (1+k) A_{C_{44}}] m_{IS}}{A_{IS} m}$$

Trong đó:

TCVN 10483:2014

F_r là hệ số đáp ứng (9.4.2);

$A_{>C_{44}}$ là tổng diện tích pic tùy thuộc vào tất cả các chất sáp có nhiều hơn C_{44} ;

$A_{C_{44}}$ là diện tích pic chất sáp C_{44} ;

A_{15} là diện tích pic hexatriacontan;

k là hệ số thực nghiệm $k = 0,5$ (xem Tài liệu tham khảo [5]);

m_{15} là khối lượng chất chuẩn nội đã bổ sung vào dầu, tính bằng microgam (μg);

m là khối lượng dầu, tính bằng gam (g).

CHÚ THÍCH: Đối với dầu đậu nành, tổng tất cả các pic của chất sáp có thể cho hàm lượng chất sáp rất cao.

10 Độ chụm

10.1 Kết quả 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 B. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này không áp dụng cho các dải nồng độ và chất nền mẫu khác với các giá trị đã nêu.

10.2 Độ lặp lại

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

10.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, tiến hành trên cùng một vật liệu thử, 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 vượt quá các giá trị nêu trong Bảng B.1.

11 Báo cáo thử nghiệm

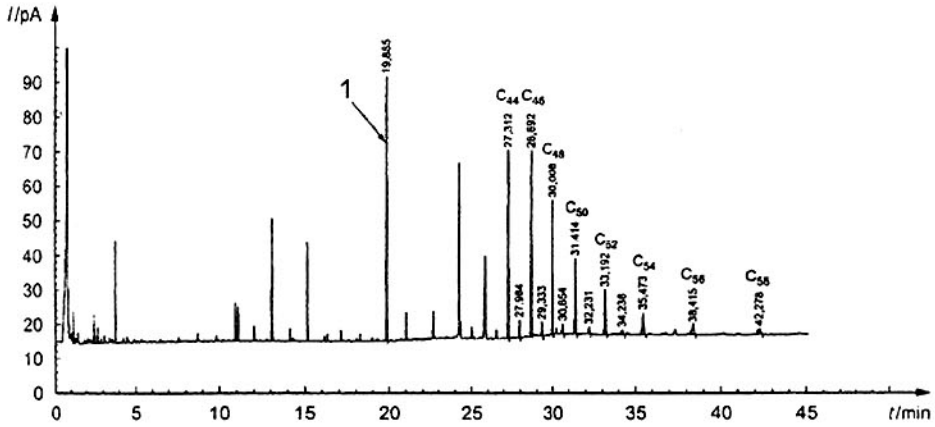
Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;

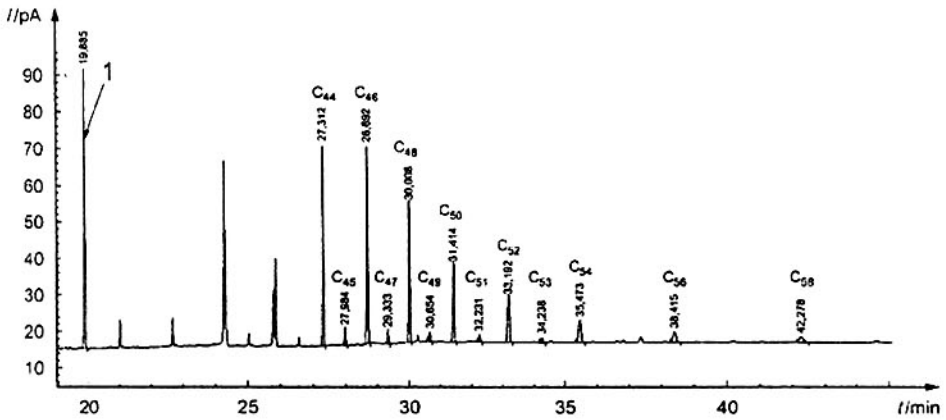
- b) phương pháp lấy mẫu đã dùng, nếu biết;
- c) phương pháp thử, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- e) kết quả thu được;
- f) nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Sắc kí đồ



a) Sắc kí đồ A – Sắc kí đồ đầy đủ



b) Sắc kí đồ B – Sắc kí đồ phóng đại

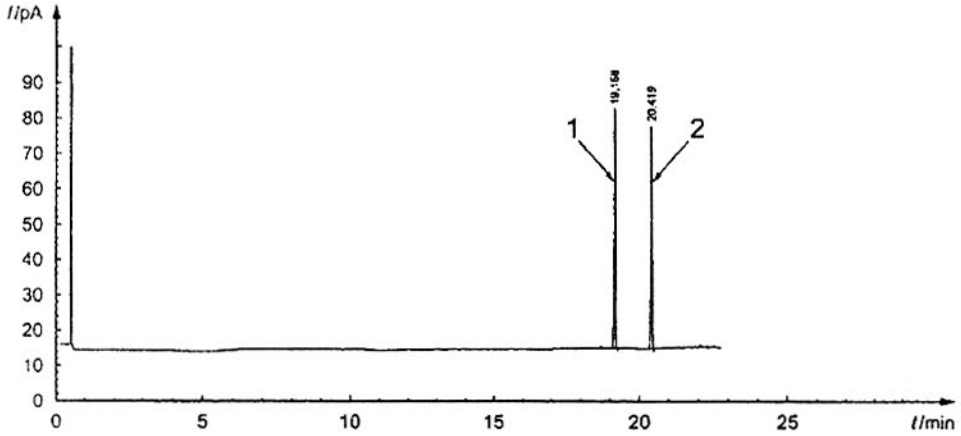
CHÚ DẪN:

I đáp ứng

t thời gian

1 dung dịch chất chuẩn nội hexatriacontan, nồng độ 0,1 mg/ml trong *n*-heptan

Hình A.1 – Ví dụ về sắc kí đồ điển hình thành phần chất sáp trong dầu hương dương thô

**CHÚ DẪN:**

I đáp ứng

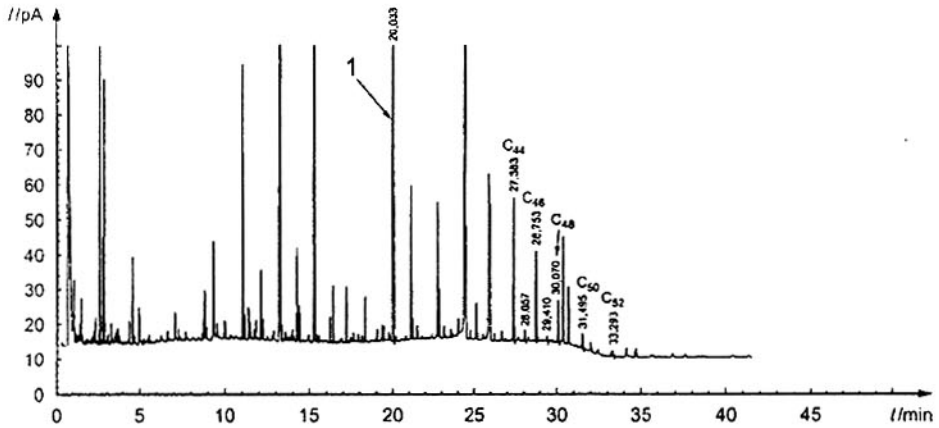
t thời gian

1 dung dịch chất chuẩn nội hexatriacontan, nồng độ 1 mg/ml trong *n*-heptan

2 stearat stearyl nồng độ 1,032 mg/ml trong cloroform

CHÚ THÍCH: Trong trường hợp này, hệ số đáp ứng, $F_r = 1,09$

Hình A.2 – Sắc kí đồ điển hình thể hiện phép xác định hệ số đáp ứng

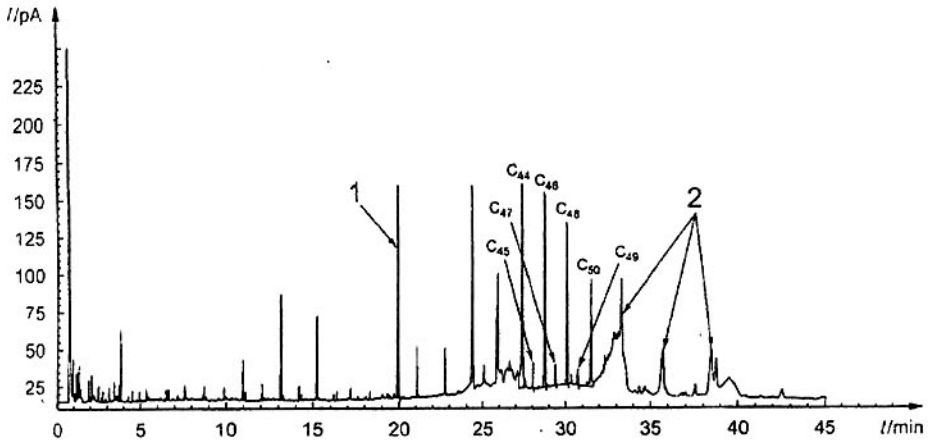
**CHÚ DẪN**

I đáp ứng

t thời gian

1 dung dịch chất chuẩn nội hexatriacontan, nồng độ 1 mg/ml trong *n*-heptan

Hình A.3 – Sắc kí đồ điển hình của thành phần chất sáp có trong dầu tách sáp, dầu hương dương tinh luyện



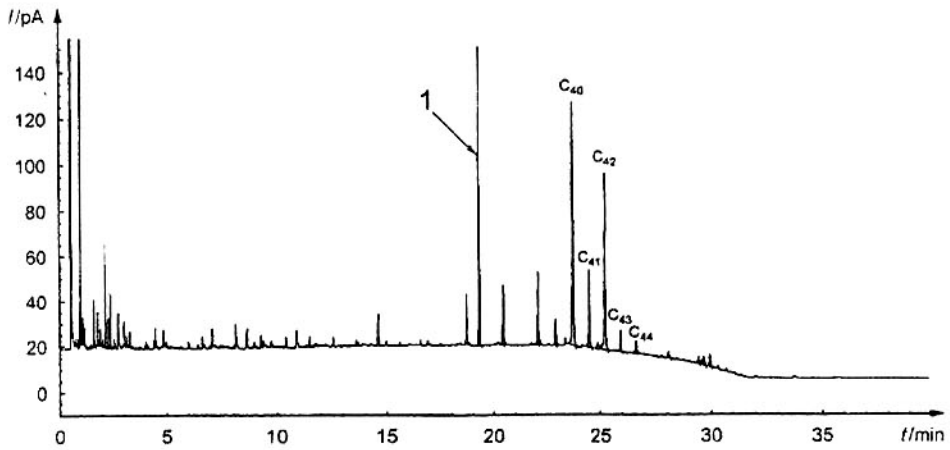
CHÚ DẪN:

I / đáp ứng

t / thời gian

1 / dung dịch chất chuẩn nội hexatriacontan, nồng độ 1 mg/ml trong *n*-heptan

Hình A.4 – Sắc kí đồ điện hình của chất sáp dầu hương dương thô đồng rửa giải với triglyxerit



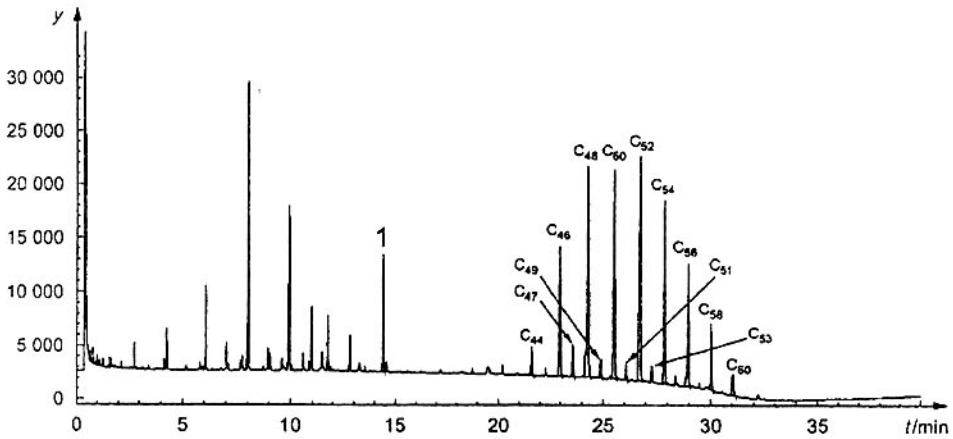
CHÚ DẪN:

I / đáp ứng

t / thời gian

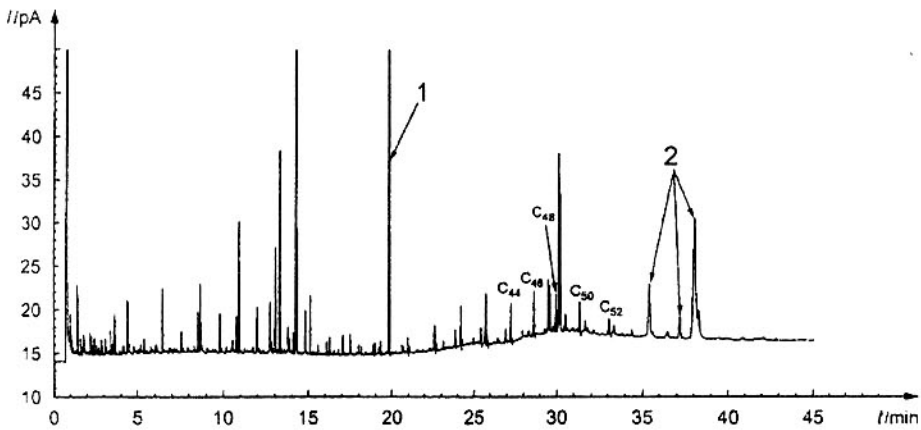
1 / dung dịch chất chuẩn nội hexatriacontan, nồng độ 1 mg/ml trong *n*-heptan

Hình A.5 – Sắc kí đồ điện hình của thành phần chất sáp dầu đậu nành

**CHÚ DẪN:**

y đáp ứng

t thời gian

1 dung dịch chất chuẩn: nội hexatriacontan, nồng độ 1 mg/ml trong *n*-hexan**Hình A.6 – Sắc kí đồ điện hình thành phần chất sáp dầu cám gạo****CHÚ DẪN**

I đáp ứng

t thời gian

1 dung dịch chất chuẩn nội hexatriacontan, nồng độ 1 mg/ml trong *n*-heptan

2 triglycerid

Hình A.7 – Sắc kí đồ điện hình của thành phần chất sáp dầu ngô

Phụ lục B
(Tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Một phép thử cộng tác quốc tế gồm có 7 phòng thử nghiệm từ bốn quốc gia tiến hành trên tám mẫu thử (bốn mẫu lặp lại).

Các kết quả thu được đưa ra các phân tích thống kê phù hợp với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[2] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[3] cho dữ liệu về độ chụm nêu trong Bảng B.1.

Bảng B.1 – Đánh giá thống kê phép thử cộng tác

Thông số	Các mẫu dầu hướng dương khác nhau							
	Dầu thô, không tách sáp		Dầu tinh luyện và dầu thô 10 %, tách sáp		Dầu đã tẩy trắng và dầu thô, không tách sáp		Dầu tinh luyện, tách sáp	
Số lượng phòng thử nghiệm tham gia	7	7	7	7	7	7	7	7
Số lượng phòng thử nghiệm sau khi trừ ngoại lệ	7	7	7	7	7	7	7	7
Số lượng các kết quả thử nghiệm thu được từ các phòng thử nghiệm còn lại	2	2	2	2	2	2	2	2
Giá trị trung bình, \bar{w}_t , mg/kg	406,9	379,6	107,8	100,4	241,0	241,6	39,6	37,0
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	21,4	9,9	17,2	6,8	9,09	9,1	1,9	3,2
Hệ số biến thiên lặp lại, $C_{V,r}$, %	5	3	16	7	4	4	5	9
Giới hạn lặp lại, r , ($2,8 s_r$), mg/kg	59,8	27,6	48,3	19,1	24,4	25,6	5,4	8,9
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	66,6	61,0	22,6	26,7	49,9	30,6	12,1	10,9
Hệ số biến thiên tái lập, $C_{V,R}$, %	16	16	21	27	21	13	31	29
Giới hạn tái lập, R , ($2,8 s_R$), mg/kg	186,5	170,8	63,2	74,7	139,6	85,8	33,8	30,4

Phụ lục C
(Tham khảo)

Chuẩn bị mẫu chuẩn chất sáp hương dương tinh thể

C.1 Thuốc thử và vật liệu thử

Trong suốt quá trình phân tích, chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích dùng cho sắc kí cột HPLC, trừ khi có quy định khác.

C.1.1 *n*-Hexan.

C.1.2 Diclometan.

C.1.3 Axeton.

C.1.4 Giấy lọc, định lượng, 80 g/m².

C.1.5 Bánh dầu hương dương đông lạnh, gồm chất trợ lọc cùng với dầu và chất sáp, phần khối lượng của dầu từ 50 % đến 70 %.

C.1.6 Dầu hương dương khử gum đã khô, có ít nhất 500 mg/kg chất sáp.

C.1.7 Chất trợ lọc, Clarcel ⁴⁾, Perfil ⁴⁾ hoặc loại khác tương đương.

C.1.8 Đất sét tẩy trắng, đã hoạt hóa axit.

C.2 Thiết bị, dụng cụ

C.2.1 Máy khuấy từ.

C.2.2 Phễu thủy tinh, đường kính 120 mm.

C.2.3 Bình cầu đáy tròn, dung tích 500 ml.

C.2.4 Bình cầu đáy tròn, dung tích 2 000 ml.

C.2.5 Cốc có mỏ, dung tích 1 000 ml.

C.2.6 Bình nón, dung tích 500 ml.

⁴⁾ Sản phẩm có bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo điều kiện thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 10483:2014

C.2.7 Bộ cô quay chân không.

C.2.8 Phễu Bucher, đường kính trong 80 mm.

C.3 Cách tiến hành

C.3.1 Phương pháp chuẩn bị chất sáp hương dương từ bánh dầu đông lạnh

C.3.1.1 Chuẩn bị mẫu

Cân khoảng 100 g bánh dầu đông lạnh (phần còn lại của dịch lọc trong quá trình đông hóa dầu hương dương) (C.1.5), thêm 350 ml *n*-hexan (C.1.1) và khuấy trên máy khuấy từ (C.2.1) trong 1 h. Sau khi tách pha, gạn lớp hexan có chứa dầu phía trên. Để yên phần cặn trong tủ hút có thông gió để làm bay hơi hexan.

C.3.1.2 Chiết chất sáp

Thêm 100 ml diclometan (C.1.2) vào phần còn lại của bánh dầu đông lạnh (C.3.1.1) và khuấy trong 10 min. Sau khi tách lớp, lọc hỗn hợp qua giấy lọc (C.1.4) vào bình cầu đáy tròn (C.2.3) và rửa phần còn lại bằng cách thêm 300 ml diclometan. Làm bay hơi dung môi trên bộ cô quay chân không (C.2.7). Phần còn lại này có chứa chất sáp.

C.3.1.3 Tinh sạch chất sáp

Thêm 60 ml axeton (C.1.3) vào phần chất sáp tách được (C.3.1.2) rồi rót sang cốc có mỏ (C.2.5), khuấy trong 15 min trên máy khuấy từ (C.2.1) và để tách pha. Lọc lớp nổi phía trên qua giấy lọc (C.1.4) và thêm 60 ml axeton vào phần cặn và lặp lại toàn bộ quy trình ít nhất bốn lần hoặc năm lần. Sau bước rửa cuối cùng, rót hết phần cặn lên giấy lọc, tráng rửa giấy lọc bằng khoảng 50 ml axeton và loại bỏ phần dung môi còn lại trong tủ hút có thông gió.

Để loại bỏ tất cả các vết của các hạt trợ lọc thì hòa chất sáp tách được trong diclometan rồi lọc qua giấy lọc (C.1.4), rửa giấy lọc bằng diclometan, làm bay hơi dung môi trên bộ cô quay chân không (C.2.7) và làm khô chất sáp trong tủ sấy ở 105 °C.

Có thể kiểm tra độ tinh khiết của chất sáp bằng máy sắc kí khí.

CHÚ THÍCH: Thành phần đặc trưng của mẫu chuẩn chất sáp dầu hương dương được chuẩn bị theo phương pháp này (xem Bảng C.1) tùy thuộc vào các điều kiện xử lý bánh dầu đông lạnh ban đầu.

**Bảng C.1 – Hai ví dụ về thành phần chất sáp hương dương điển hình
được chuẩn bị từ bánh dầu đông lạnh**

Thành phần chất sáp	Không có bước loại sáp trước % khối lượng	Có bước loại sáp trước % khối lượng
C ₄₂	5,3	5,9
C ₄₃	0,7	0,9
C ₄₄	19,7	23,3
C ₄₅	1,9	2,0
C ₄₆	22,0	23,3
C ₄₇	1,8	1,5
C ₄₈	15,1	14,9
C ₄₉	1,2	1,0
C ₅₀	9,7	8,9
C ₅₁	1,0	0,8
C ₅₂	8,8	7,2
C ₅₃	0,9	0,7
C ₅₄	5,3	4,3
C ₅₅	0,6	0,4
C ₅₆	3,1	2,4
C ₅₇	—	0,3
C ₅₈	1,8	1,4
C ₅₉	—	—
C ₆₀	1,1	0,8

C.3.2 Phương pháp chuẩn bị chất sáp hương dương từ dầu hương dương khử gum

C.3.2.1 Chuẩn bị mẫu

Cân khoảng 1 000 g dầu hương dương khử gum đã khô (C.1.6) vào bình cầu đáy tròn (C.2.4) được trang bị máy khuấy từ (C.2.1), gia nhiệt đến 70 °C dưới áp suất giảm (10 kPa), tháo chân không sau khi đạt được nhiệt độ yêu cầu, thêm khoảng 2 % đất sét tẩy trắng (C.1.8), nối lại chân không, làm nóng đến 100 °C dưới áp suất giảm bằng cách khuấy thủ công và duy trì điều kiện này trong 30 min. Làm nguội dưới áp suất giảm, tháo chân không rồi lọc lượng chứa trong bình qua phễu lọc (C.2.8), sử dụng giấy lọc (C.1.4) cùng với lớp chất trợ lọc (C.1.7) dày 20 mm.

C.3.2.2 Chiết chất sáp

Rót dầu đã khử màu vào bình chứa thủy tinh có nắp vặn, đậy nắp và bảo quản bình trong tủ lạnh ở 0 °C ± 2 °C ít nhất 2 ngày. Chất sáp kết tinh thành cặn trong bình chứa. Gạn lớp phía trên (dầu tinh khiết), làm ấm phần còn lại đến 130 °C, đồng hóa và cân 20 g dịch lỏng vào bình thủy tinh. Thêm 50

TCVN 10483:2014

ml axeton (C.1.3), khuấy trong 5 min trên máy khuấy từ, để cho tách pha, gạn pha phía trên và cho qua giấy lọc (C.1.4).

Thêm 50 ml axeton khác vào pha dưới và lặp lại quy trình như trên năm lần hoặc sáu lần.

Sau bước tráng rửa cuối cùng, đặt hết phần chất sáp còn lại lên giấy lọc và rửa bằng khoảng 30 ml axeton, loại bỏ dung môi còn lại trong tủ hút có thông gió. Kiểm tra độ tinh khiết và thành phần bằng sắc kí khí.

CHÚ THÍCH: Ví dụ về thành phần chất sáp hương dương điển hình được chuẩn bị từ dầu hương dương khử gum nêu trong Bảng C.2.

Bảng C.2 – Ví dụ về thành phần chất sáp hương dương điển hình được chuẩn bị từ dầu hương dương khử gum

Thành phần chất sáp	Hàm lượng % khối lượng
C ₄₂	2,3
C ₄₃	0,5
C ₄₄	15,1
C ₄₅	1,6
C ₄₆	21,1
C ₄₇	1,5
C ₄₈	16,6
C ₄₉	1,2
C ₅₀	11,2
C ₅₁	1,1
C ₅₂	10,1
C ₅₃	1,1
C ₅₄	6,6
C ₅₅	0,7
C ₅₆	4,0
C ₅₇	0,5
C ₅₈	2,5
C ₅₉	0,3
C ₆₀	1,6

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.*
- [4] TCVN 7152 (ISO 7712), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet Pasteur sử dụng một lần.*
- [5] HENON, G. Chromatographic determination of waxes in sunflower oil. *Rev. Fr. Corps Gras* 1986, **33**, pp.475-482.
- [6] RESEG, K. KEMÉNY, Z. KÖVARI, K., DENISE, J. Investigation of non-glyceridic esters of vegetable oils. In: KOSOGLU, S.S., RHEE, K.C., WLISON, R.F., editors. *Proceeding of the World Conference on Oilseed and Edible Oils Processing*. Champaign, IL: AOCS Press, 1998, Vol. II, pp. 342-345.
- [7] HENON, G RECSEG, K. KÖVÁRI, K. Wax analysis of vegetable oils using liquid chromatography on a double-adsorbent layer of silica gel and silver nitrate-impregnated silica gel. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2001, **78**, pp. 401-410.
-