

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10480 : 2014

ISO 18609:2000

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH CHẤT KHÔNG XÀ PHÒNG HÓA –
PHƯƠNG PHÁP CHIẾT BẰNG HEXAN**

Animal and vegetable fats and oils –

Determination of unsaponifiable matter – Method using hexan extration

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

TCVN 10480:2014 hoàn toàn tương đương với ISO 18609:2000;

TCVN 10480:2014 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.

Dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định chất không xà phòng hóa - Phương pháp chiết bằng hexan

Animal and vegetable fats and oils -

Determination of unsaponifiable matter - Method using hexan extraction

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp chiết hexan ba lần để xác định hàm lượng chất không xà phòng hóa có trong dầu mỡ động vật và thực vật.

Phương pháp này áp dụng cho tất cả các loại dầu mỡ nhưng không áp dụng cho các loại sáp.

CẢNH BÁO – So với phương pháp nêu trong TCVN 6123 (ISO 3596) thì các phương pháp hiện nay đều cho các kết quả thấp.

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

Chất không xà phòng hóa (unsaponifiable matter)

Tất cả các chất có mặt trong sản phẩm được chiết bằng hexan, sau khi xà phòng hóa bằng kali hydroxit không bay hơi theo các điều kiện thao tác quy định.

TCVN 10480:2014

CHÚ THÍCH: Chất không xà phòng hóa bao gồm các lipid có nguồn gốc tự nhiên như các sterol, các hydrocacbon và ancol bậc cao hơn, ancol aliphatic, ancol terpenic, cũng như tất cả các chất hữu cơ ngoại lai được chiết bằng dung môi và không bị bay hơi ở 103 °C (ví dụ dầu khoáng) có thể có mặt.

4 Nguyên tắc

Xà phòng hóa dầu hoặc mỡ bằng cách đun sôi hồi lưu với dung dịch kali hydroxit trong etanol. Chiết chất không xà phòng hóa từ dung dịch xà phòng bằng hexan hoặc nếu không có thì chiết bằng dầu nhẹ. Làm bay hơi dung môi và cân phần cặn sau khi sấy.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích và nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

5.1 n-Hexan hoặc nếu không có thì sử dụng **dầu nhẹ**, nhiệt độ chưng cất từ 40 °C đến 60 °C, trị số brom nhỏ hơn 1. Cả hai dung môi phải không chứa cặn.

5.2 Ethanol, dung dịch 10 % (thể tích).

5.3 Phenolphthalein, dung dịch 10 g/l trong etanol 95 % (thể tích).

5.4 Dung dịch kali hydroxit, trong etanol, $c(\text{KOH}) \approx 1 \text{ mol/l}$.

Hòa tan 60 g kali hydroxit trong 50 ml nước và thêm etanol 95 % (thể tích) đến 1 000 ml. Dung dịch phải không màu hoặc có màu vàng nhạt.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

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

6.2 Bộ sinh hàn, có khớp nối mài nối khít với bình cầu (6.1).

6.3 Phễu chiết, dung tích 250 ml, có khóa và nắp bằng polytetrafloetylen.

6.4 Nồi cách thủy đun sôi.

6.5 Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ ở $103 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$, hoặc **thiết bị sấy dưới chân không**, ví dụ: bộ cơ quay hoặc thiết bị tương tự.

7 Lấy mẫu

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

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và 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 Phần mẫu thử

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

9.2 Xà phòng hóa

Thêm 50 ml dung dịch kali hydroxit (5.4) và vài hạt chống sôi trào. Nối bộ sinh hàn (6.2) vào bình cầu và đun sôi nhẹ lượng chứa trong bình trong 1 h. Ngừng đun nóng. Thêm 50 ml nước qua phía trên bình sinh hàn và lắc.

9.3 Chiết chất không xà phòng hóa

Sau khi làm nguội, chuyển dung dịch sang phễu chiết 250 ml (6.3). Tráng rửa bình và các hạt chống sôi trào vài lần bằng hexan (5.1), dùng tổng cộng 50 ml và rót nước tráng rửa sang phễu chiết. Đậy nắp và lắc mạnh trong 1 min, thỉnh thoảng cân bằng áp suất bằng cách đảo chiều phễu chiết và cẩn thận mở khóa vòi.

Để yên cho đến khi hai pha tách ra hoàn toàn. Sau đó thu lấy lớp phía dưới càng nhiều càng tốt vào phễu chiết thứ hai.

Nếu tạo huyền phù thì phải loại bỏ huyền phù bằng cách thêm một lượng nhỏ etanol hoặc dung dịch kali hydroxid hoặc dung dịch natri clorua đậm đặc.

Chiết dung dịch xà phòng trong etanol ít nhất hai lần, mỗi lần bằng 50 ml hexan theo cùng một cách. Thu ba dịch chiết hexan vào một phễu chiết.

9.4 Rửa dịch chiết hexan

Rửa hỗn hợp dịch chiết ba lần mỗi lần bằng 25 ml dung dịch etanol (5.2), lắc mạnh và loại bỏ pha nước sau mỗi lần rửa. Mỗi lần loại bỏ dung dịch rửa để lại 2 ml sau đó xoay phễu chiết quanh trục của

TCVN 10480:2014

nó. Đợi vài phút để lớp nước etanol thu lại. Loại bỏ hết lớp nước etanol này, đóng khóa vòi khi dung dịch hexan vừa chạm tới khóa.

Tiếp tục rửa bằng dung dịch etanol cho đến khi nước rửa không còn tạo màu hồng khi thêm một giọt dung dịch phenolphthalein (5.3).

9.5 Làm bay hơi dung môi

Chuyển định lượng dung dịch hexan, mỗi lần một ít nếu cần, từ phễu chiết sang bình cầu 250 ml (6.1) đã sấy trước ở 103 °C trong tủ sấy (6.5), sau đó làm nguội và cân chính xác đến 0,1 mg. Làm bay hơi dung môi trong nồi cách thủy đun sôi (6.4).

9.6 Sấy cạn và xác định

9.6.1 Sấy phần cạn 15 min trong tủ sấy (6.5) cài đặt ở 103 °C, đặt bình ở vị trí gần như nằm ngang. Làm nguội trong bình hút ẩm và cân chính xác đến 0,1 mg.

Cách khác, nối bình cầu với thiết bị cô quay chân không (6.5) và làm khô trên nồi cách thủy đun sôi dưới chân không tối đa của bơm trong khoảng 15 min. Làm nguội đến nhiệt độ phòng dưới chân không tối đa của bơm, lau bình cẩn thận và cân chính xác đến 0,1 mg.

Lặp lại quá trình sấy liên tiếp trong các khoảng thời gian 15 min đến khi hao hụt khối lượng giữa hai lần cân liên tiếp nhỏ hơn 1,5 mg. Nếu khối lượng thu được vẫn thay đổi sau ba lần sấy thì chất không xà phòng hoá có thể bị nhiễm bẩn và phải tiến hành xác định lại.

9.6.2 Nếu cần hiệu chỉnh đối với các axit béo tự do, sau khi cân phần cạn thì hòa tan cạn trong 4 ml hexan (5.1) và thêm 20 ml etanol đã được trung hòa đến khi có màu hồng nhạt khi thêm phenolphthalein (5.3) làm chất chỉ thị. Chuẩn độ bằng dung dịch thể tích chuẩn kali hydroxit trong etanol, $c(\text{KOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$, cho đến khi màu cuối cùng như nhau. Tính khối lượng axit béo tự do theo axit oleic và hiệu chỉnh khối lượng cạn tương ứng (xem Điều 10).

9.7 Số lần xác định

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

9.8 Phép thử trắng

Tiến hành phép thử trắng, sử dụng cùng một quy trình và cùng lượng thuốc thử nhưng không có phần mẫu thử. Nếu khối lượng phần cạn vượt quá 1,5 mg thì kiểm tra lại kỹ thuật thao tác và thuốc thử.

10 Biểu thị kết quả

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

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

Trong đó

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

m_1 là khối lượng cặn, tính bằng gam (g);

m_2 là khối lượng cặn thu được của mẫu trắng, tính bằng gam (g);

m_3 là khối lượng axit béo tự do, nếu có và bằng $0,28 V \times c$, tính bằng gam (g)

Trong đó

V là thể tích của dung dịch thể tích chuẩn kali hydroxit trong etanol dùng để chuẩn độ (9.6.2), tính bằng mililit (ml);

c là nồng độ chính xác của dung dịch thể tích chuẩn kali hydroxit trong etanol, tính bằng mol trên lít (mol/l).

Lấy kết quả là trung cộng của hai phép xác định.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

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

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi 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;

TCVN 10480:2014

- tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- các kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A
(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

A.1 Thành phần tham gia

Có mười bốn phòng thử nghiệm đến từ sáu quốc gia khác nhau (Pháp, Đức, Hungary, Malaysia, Hà Lan, Vương Quốc Anh) đã tham gia vào một nghiên cứu cộng tác do Trung tâm kỹ thuật công nghệ Viện cây trồng tổ chức.

A.2 Mẫu

Chuẩn bị ba mẫu:

- Mẫu A: dầu hướng dương thô;
- Mẫu B: dầu cọ thô;
- Mẫu C: mỡ động vật thô.

A.3 Kết quả

Bảng A.1, A.2 và A.3 cho các kết quả thu được từ các phòng thử nghiệm đối với ba mẫu A, B và C. Bảng A.4 cho các kết quả thống kê theo từng mẫu.

Hai phòng thử nghiệm đã bị loại trừ mẫu A dựa vào phép thử Cochran (Phòng thử nghiệm 6) và phép thử Dixon (Phòng thử nghiệm 9), một phòng thử nghiệm đã bị loại trừ mẫu C dựa vào phép thử Dixon (Phòng thử nghiệm 11) và không có phòng thử nghiệm nào bị loại trừ mẫu B.

Các giá trị trung bình đối với hàm lượng chất không xà phòng hóa trong ba mẫu thử trong khoảng từ 0,15 % đến 0,58 % (tính theo khối lượng).

Giới hạn lặp lại khoảng 0,06 % (tính theo khối lượng) và các giá trị hệ số biến thiên lặp lại trong khoảng từ 3,6 % đến 10,5 %.

Giới hạn tái lập khoảng 0,18 % (tính theo khối lượng) và các giá trị hệ số biến thiên tái lập trong khoảng từ 9 % đến 36 %.

Bảng A.1 – Mẫu A: Dầu hướng dương thô

Phòng thử nghiệm	Kết quả số 1 % (khối lượng)	Kết quả số 2 % (khối lượng)
1	0,56	0,58
2	0,541	0,545
3	0,51	0,52
4	0,62	0,58
5	0,57	0,63
6	0,78	0,61
7	0,54	0,51
8	0,64	0,62
9	0,89	0,89
10	0,54	0,57
11	0,62	0,64
12	0,6	0,63
13	0,68	0,68
14	0,56	0,52

CHÚ THÍCH 1: Phòng thử nghiệm 6 bị loại trừ dựa vào phép thử Cochran (5 %).
CHÚ THÍCH 2: Phòng thử nghiệm 9 bị loại trừ dựa vào phép thử Dixon (5 %).

Bảng A.2 – Mẫu B: Dầu cọ thô

Phòng thử nghiệm	Kết quả số 1 % (khối lượng)	Kết quả số 2 % (khối lượng)
1	0,35	0,33
2	0,262 5	0,248 5
3	0,37	0,32
4	0,30	0,30
5	0,35	0,42
6	0,44	0,45
7	0,35	0,3
8	0,35	0,35
9	0,18	0,18
10	0,25	0,32
11	0,51	0,48
12	0,24	0,26
13	0,34	0,32
14	0,38	0,34

Bảng A.3 – Mẫu C: Mỡ động vật thô

Phòng thử nghiệm	Kết quả số 1 % (khối lượng)	Kết quả số 2 % (khối lượng)
1	0,16	0,18
2	0,133 7	0,106
3	0,18	0,17
4	0,15	0,14
5	0,22	0,23
6	0,09	0,12
7	0,09	0,11
8	0,2	0,21
9	0,04	0,03
10	0,13	0,18
11	0,40	0,41
12	0,13	0,14
13	0,23	0,22
14	0,16	0,19
CHÚ THÍCH: Phòng thử nghiệm 11 bị loại trừ dựa vào phép thử Dixon (5 %).		

Bảng A.4 – Phân tích thống kê các kết quả nghiên cứu cộng tác

	Mẫu A Dầu hướng dương thô	Mẫu B Dầu cọ thô	Mẫu C Mỡ động vật thô
Số lượng phòng thử nghiệm	14	14	14
Số lượng phòng thử nghiệm giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	12	14	13
Giá trị trung bình, % (khối lượng)	0,58	0,33	0,15
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , %	0,02	0,03	0,02
Hệ số biến thiên lặp lại, (%)	3,64	7,81	10,49
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , %	0,05	0,08	0,05
Hệ số biến thiên tái lập (%)	8,99	24,63	36,32
Giới hạn lặp lại, r , %	0,06	0,07	0,04
Giới hạn tái lập, R , %	0,15	0,23	0,16

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6123 (ISO 3596), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Xác định chất không xà phòng hóa – Phương pháp dùng chất chiết dietylê.*
 - [2] TCVN 2625 (ISO 5555), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu.*
-