

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10482 : 2014

ISO 22959 : 2009

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT – XÁC ĐỊNH
HYDROCACBON THƠM ĐA VÒNG BẰNG SẮC KÝ PHỨC
CHẤT CHO-NHẬN TRỰC TIẾP VÀ SẮC KÝ LỎNG HIỆU
NĂNG CAO (HPLC) CÓ DETECTOR HUỖNH QUANG**

Animal and vegetable fats and oils –

*Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by on-line donor-acceptor
complex chromatography and HPLC with fluorescence detection*

HÀ NỘI - 2014

Lời nói đầu

TCVN 10482:2014 hoàn toàn tương đương với ISO 22959:2009;

TCVN 10482:2014 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

Các hydrocacbon thơm đa vòng (PAH) được tạo thành trong suốt quá trình nhiệt phân như quá trình đốt cháy không hoàn toàn các chất hữu cơ hoặc các chất có nguồn gốc trầm tích (dầu khoáng). Dầu mỡ thực phẩm có thể bị nhiễm bẩn do ô nhiễm môi trường và/hoặc các bước xử lý trước khi tinh luyện. Các PAH trong dầu mỡ là mối quan ngại về sức khỏe do có khả năng gây ung thư. Hàm lượng khác nhau của các PAH đã được tìm thấy trong dầu thực phẩm thô. Quá trình tinh luyện dầu (khử mùi, tẩy trắng, xử lý than) theo các điều kiện thích hợp làm giảm hàm lượng các PAH riêng rẽ đến mức microgram trên kilogram. Các phương pháp phân tích PAH trong dầu mỡ thực vật đã được biết đến bao gồm các quy trình tách chiết khó và phức tạp, quy trình tinh sạch để tách các PAH có hàm lượng thấp.

Với phương pháp sắc kí phức chất cho nhận (DACC) thì PAH có thể được chiết ra khỏi các chất nền mẫu khác nhau. Các PAH là các phân tử cho electron (π -electron) và sự tương tác mạnh của các PAH với một phân tử nhận electron trong pha tĩnh làm giữ lại các PAH và rửa giải (phần lớn) các thành phần khác trong dầu. Tiêu chuẩn này quy định phương pháp trực tiếp tự động để xác định các PAH trong dầu mỡ thực phẩm, phương pháp này có thể dễ dàng sử dụng như phương pháp phân tích thông dụng. Phương pháp này gồm có cột DACC tinh sạch ghép đôi LC-LC với cột phân tích dùng cho quá trình tách chiết. Các PAH được định lượng bằng detector huỳnh quang.

So sánh với các phương pháp cũ thì phương pháp tự động trực tiếp này làm giảm đáng kể hàm lượng dung môi sử dụng và tiết kiệm thời gian đáng kể. Làm sạch cột DACC nhanh và tiến hành trong suốt quá trình chạy HPLC mẫu trước đó. Tổng thời gian phân tích một mẫu khoảng 90 min, so với các phương pháp truyền thống cần từ 8 h đến 10 h. Ngoài ra, hệ thống có thể chạy liên tục trong ngày. Cuối cùng, hao hụt các PAH dễ bay hơi trong suốt quá trình bay hơi dung môi được loại trừ. Giới hạn định lượng 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ của các PAH riêng lẻ thu được bằng phương pháp DACC tự động hiệu chỉnh các hệ số thu hồi có thể không hoàn toàn từ các mẫu hiệu chuẩn được xử lý tương tự như mẫu phân tích. Hệ thống này sử dụng thiết bị HPLC thông thường.

Dầu mỡ động vật và thực vật - Xác định hydrocacbon thơm đa vòng bằng sắc kí phức chất cho-nhận trực tiếp và sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) có detector huỳnh quang

Animal and vegetable fats and oils - Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by on-line donor-acceptor complex chromatography and HPLC with fluorescence detection

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) để xác định các hydrocacbon thơm đa vòng (PAH) trong dầu, mỡ thực phẩm.

Phương pháp này thích hợp cho dầu dừa (CN), dầu oliu (OV), dầu hướng dương (SF) và dầu đậu nành (BO) và có thể áp dụng cho các loại dầu khác phụ thuộc vào phép xác định các thông số thích hợp.

Mức định lượng thấp nhất đối với các PAH là 0,1 µg/kg. Lượng thấp nhất của mỗi PAH có thể phân biệt được từ nhiễu nền là chưa được xác định. Dải nồng độ được xác nhận thích hợp của phương pháp đối với mỗi PAH riêng lẻ là từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg. Đối với các mẫu có (ít) hàm lượng PAH > 3,5 µg/kg thì có thể pha loãng mẫu để thu được hàm lượng nằm trong dải thích hợp. Cũng có thể điều chỉnh dải các đường chuẩn. Tuy nhiên, dải hàm lượng PAH vượt quá 3,5 µg/kg hiện chưa được đánh giá xác nhận.

Các PAH có thể xác định được bằng phương pháp này là: anthracen, phenanthren, fluoranthen, pyren, chrysen, benzo[a]anthracen, benzo[e]pyren, benzo[a]pyren, perylen, benzo[ghi]perylene, anthanthren, dibenzo[a,h]anthracen, coronen, indeno[1,2,3-cd]pyren, benzo[a]fluoranthen, benzo[b]fluoranthen, benzo[k]fluoranthen.

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 các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

3.1

Hydrocacbon thơm đa vòng (polycyclic aromatic hydrocarbon)

PAH

Hợp chất có chứa hai hoặc nhiều hơn hai vòng hydrocacbon thơm đa vòng ngưng kết (liên hợp) và có thể xác định được hàm lượng của chúng theo phương pháp quy định trong tiêu chuẩn này.

3.2

Hydrocacbon thơm đa vòng nhẹ (light polycyclic aromatic hydrocarbon)

Hợp chất có từ hai đến bốn vòng hydrocacbon thơm ngưng kết (liên hợp).

VÍ DỤ:

Hợp chất	Số CAS	Hợp chất	Số CAS	Hợp chất	Số CAS
acenaphthen	83-32-9	benzo[e]pyren	192-97-2	naphthalen	50-32-8
acenaphthylen	208-96-8	chrysen	218-01-9	phenanthren	85-01-8
anthracen	120-12-7	fluoranthen	206-44-0	pyren	129-00-0
benzo[a]anthracen (1,2-benzoanthracen)	56-55-3	fluoren	86-73-7	-	-

3.3

Hydrocacbon thơm đa vòng nặng (heavy polycyclic aromatic hydrocarbon)

Hợp chất có năm hoặc nhiều hơn năm vòng hydrocacbon thơm ngưng kết (liên hợp).

VÍ DỤ:

Hợp chất	Số CAS	Hợp chất	Số CAS	Hợp chất	Số CAS
benzo[a]pyren (1,2-benzopyren)	50-32-8	benzo[k]fluoranthen	207-08-9	dibenzo[a,h]anthracen (1,2,5,6- dibenzoanthracen)	53-70-3
benzo[a]fluoranthen	203-33-8	benzo[ghi]perylene (1,12-benzoperylene)	191-24-2	indeno[1,2,3-cd]pyren	193-39-5
benzo[b]fluoranthen	205-99-2	coronen	191-07-1	perylene	198-55-0

3.4

Hàm lượng hydrocacbon thơm đa vòng (polycyclic aromatic hydrocarbon content)

Phần khối lượng hydrocacbon thơm đa vòng hoặc hỗn hợp hydrocacbon thơm đa vòng trong chất nền.

VÍ DỤ: Hàm lượng hydrocacbon thơm đa vòng riêng lẻ, hàm lượng hydrocacbon thơm đa vòng nhẹ, hàm lượng hydrocacbon thơm đa vòng nặng.

CHÚ THÍCH: Hàm lượng này được biểu thị bằng phần khối lượng tính bằng microgam trên kilogam.

4 Nguyên tắc

Các PAH trong dầu thực phẩm được xác định bằng sắc kí phức chất cho nhận trực tiếp (DACC) và sắc kí lỏng hiệu năng cao (HPLC) có detector huỳnh quang. Mẫu dầu được rửa giải trên cột bằng pha tĩnh cải biến (cột DACC) hoạt động như một chất nhận electron. Cột này sẽ giữ các PAH (chất cho electron) bằng các liên kết π - π . Sau khi rửa giải dầu, các PAH được chuyển trực tiếp sang cột phân tích pha đảo. Các PAH riêng lẻ được phát hiện ở các bước sóng khác nhau. Thời gian lưu của các PAH được dùng để nhận biết các hợp chất riêng rẽ. Hàm lượng các PAH trong mẫu dầu được tính bằng phương pháp ngoại chuẩn.

5 Thuốc thử, vật liệu thử và chất chuẩn

CẢNH BÁO – Phương pháp này yêu cầu sử dụng các thuốc thử độc hại. Cần tuân thủ các quy định an toàn trong phòng thí nghiệm thông thường. Tất cả các PAH bị nghi ngờ là các hợp chất gây ung thư. Vì vậy, cần ưu tiên chuẩn bị các dung dịch gốc, dung dịch chuẩn và các mẫu của đường chuẩn (5.3) trong các phòng thử nghiệm. Ngoài ra, áo khoác và găng tay bảo vệ phòng thí nghiệm là rất cần thiết cho các bước này. Giấy và găng tay nhiễm bẩn phải được thu lại trong túi bằng chất dẻo và loại bỏ sau khi dán kín.

5.1 Thuốc thử

5.1.1 Axetonitril, loại dùng cho HPLC, $w[\text{C}_2\text{H}_3\text{N}] > 99,9$ % khối lượng.

5.1.2 Etyl axetat, loại dùng cho HPLC, $w[\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2] > 99,8$ % khối lượng.

5.1.3 2-Propanol, loại dùng cho HPLC, $w[\text{C}_3\text{H}_8\text{O}] > 99,9$ % khối lượng.

5.1.4 Toluene, loại dùng cho HPLC, $w[\text{C}_7\text{H}_8] > 99,9$ % khối lượng.

5.1.5 Nước, loại dùng cho HPLC.

5.2 Chất chuẩn ¹⁾

5.2.1 Anthracen, $w[\text{C}_{14}\text{H}_{10}] > 99$ % khối lượng.

5.2.2 Phenanthren, $w[\text{C}_{14}\text{H}_{10}] > 99$ % khối lượng.

5.2.3 Fluoranthen, $w[\text{C}_{16}\text{H}_{10}] > 99$ % khối lượng.

5.2.4 Pyren, $w[\text{C}_{16}\text{H}_{10}] > 99$ % khối lượng.

¹⁾ IRMM (<http://www.irmm.jrc.be>) and Sigma-Aldrich (<http://www.sigmaaldrich.com>) là các nhà cung cấp thích hợp. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng các sản phẩm của các nhà cung cấp này. Các sản phẩm khác có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.

5.2.5 Chrysen, $w[C_{18}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.6 Benzo[a]anthracen (1,2-Benzoanthracen), $w[C_{18}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.7 Benzo[e]pyren, $w[C_{20}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.8 Benzo[a]pyren (1,2-Benzopyren), $w[C_{20}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.9 Perylen, $w[C_{20}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.10 Benzo[ghi]perylene (1,12-Benzoperylen), $w[C_{22}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.11 Anthanthren, $w[C_{22}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.12 Dibenz[a,h]anthracen (1,2,5,6-Dibenzoanthracen), $w[C_{22}H_{14}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.13 Coronen, $w[C_{24}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.14 Indeno[1,2,3-cd]pyren, $w[C_{22}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.15 Benzo[a]fluoranthren, $w[C_{20}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.16 Benzo[b]fluoranthren, $w[C_{20}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.17 Benzo[k]fluoranthren, $w[C_{20}H_{12}] > 99\%$ khối lượng.

5.2.18 Vật liệu chuẩn 458 do Community Bureau of Reference (BCR) chứng nhận, dầu dừa có 6 PAHs.

5.3 Dung dịch chuẩn

5.3.1 Dung dịch chuẩn PAH trong toluen, nồng độ khối lượng khoảng 0,2 mg/ml. Cân khoảng 10 mg tất cả các PAH (từ 5.2.1 đến 5.2.17), chính xác đến 0,01 mg, cho vào các bình định mức một vạch 50 ml (6.7) riêng rẽ và thêm toluen (5.1.4) đến vạch.

5.3.2 Dung dịch chuẩn PAH trong dầu, phần khối lượng khoảng 125 µg/kg. Chuẩn bị dung dịch chuẩn PAH trong dầu của cùng một loại dầu (5.3.3) với mẫu thử phân tích.

Dùng xyranh (6.2) chuyển 10,0 µl từng dung dịch chuẩn (5.3.1) vào một lọ 20 ml (6.1) có nắp gập. Đợi đến khi (phần lớn) toluen bay hơi và cân 16 g dầu, chính xác đến 0,1 mg, cho vào lọ. Trộn kĩ.

5.3.3 Chuẩn bị dầu dùng cho dung dịch chuẩn (mẫu trắng và dung dịch pha loãng). Cân khoảng 400 g dầu tinh luyện (là tốt nhất) cho vào bình cầu đáy tròn 1 lít. Thêm 20 g than hoạt tính²⁾. Gia nhiệt

²⁾ Than loại Norit[®] SA 4PAH và than loại Norit[®] là ví dụ về các 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 các sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.

trong 2 h ở 90 °C trong thiết bị cơ quay chân không, li tâm hỗn hợp và lọc lớp nổi phía trên qua bộ lọc màng cỡ lỗ 0,45 µm (6.3).

Phân tích dầu để kiểm tra đường nền của PAH là nhỏ hơn nhiều 0,1 µg/kg. Hàm lượng các PAH nhẹ có thể được hạ xuống bằng cách hóa hơi trong khoảng 3 h ở 240 °C với 3 % thể tích bay hơi/giờ ở áp suất nhỏ hơn 3 kPa, nếu cần.

5.3.4 Mẫu dùng cho đường chuẩn PAH. Chuẩn bị mẫu dùng cho đường chuẩn với cùng một loại dầu dùng như mẫu phân tích. Đường nền của PAH trong dầu được sử dụng cần phải thấp hơn nhiều 0,1 µg/kg.

Chuẩn bị sáu mẫu hiệu chuẩn bằng cách cân các lượng dung dịch chuẩn PAH khác nhau trong dầu (5.3.2), chính xác đến 0,1 mg cho vào các lọ 20 ml có nắp gấp (6.1) và thêm dầu tinh luyện (5.3.3), chính xác đến 0,1 mg, theo Bảng 1.

Bảng 1 – Lượng dung dịch chuẩn PAH trong dầu và lượng dầu tinh luyện sử dụng

Mẫu đường chuẩn µg/kg	Lượng cân của dung dịch chuẩn PAH trong dầu mg	Tổng khối lượng sau khi thêm dầu tinh luyện g
0,1	10,0	12,500 0
0,8	32,0	5,000 0
1,5	60,0	5,000 0
2,1	84,0	5,000 0
2,8	56,0	2,500 0
3,5	70,0	2,500 0

Nếu hàm lượng các PAH (nhẹ) trong hầu hết các mẫu cần phân tích dự kiến lớn hơn 3,5 µg/kg thì chỉnh dải đường chuẩn. Tuy nhiên, các dải vượt quá 3,5 µg/kg hiện chưa được đánh giá xác nhận.

5.4 Chất rửa giải dùng cho phân tích HPLC

5.4.1 Dung môi A: Hỗn hợp axetonitril-nước (axetonitril 85 % thể tích, nước 15 % thể tích). Trộn 663 g axetonitril (5.1.1) với 150 g nước (5.1.5).

5.4.2 Dung môi B: axetonitril (5.1.1).

5.4.3 Dung môi C/E: Hỗn hợp etyl axetat-axetonitril (etyl axetat 70 % thể tích, axetonitril 30 % thể tích). Trộn 630 g etyl axetat (5.1.2) với 234 g axetonitril (5.1.1).

5.4.4 Dung môi D: 2-propanol (5.1.3).

6 Thiết bị, dụng cụ

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

6.1 Lọ dùng cho HPLC có nắp gấp thích hợp cho bộ lấy mẫu tự động.

6.2 Xyranh, dung tích 10 µl, 250 µl.

6.3 Bộ lọc màng³⁾, cỡ lỗ 0,45 µm.

6.4 Xyranh dùng một lần dùng, dung tích 5 ml.

6.5 Hệ thống HPLC, tốt nhất có bộ lấy mẫu tự động làm nóng được.

Đối với các mẫu phân tích chất béo dầu cọ và chất béo dầu dừa hoặc chất béo đông cứng thì chuẩn bị theo 8.1.2, nên sử dụng bộ lấy mẫu đã được làm nóng. Nếu không có bộ lấy mẫu tự động được làm nóng thì bơm ngay mẫu đã chuẩn bị theo 8.1.2.

CHÚ THÍCH 1: Ví dụ về các bộ phận riêng lẻ của hệ thống HPLC được nêu trong Phụ lục A. Các khớp nối ống của hệ thống HPLC được nêu trong Phụ lục E⁴⁾.

CHÚ THÍCH 2: Ví dụ về các điều kiện thao tác của các bộ phận riêng lẻ của hệ thống HPLC được nêu trong Phụ lục B và Phụ lục D.

6.6 Hệ thống xử lý dữ liệu sắc kí đồ.

6.7 Bình định mức một vạch có nắp đậy, dung tích 50 ml, loại A theo TCVN 7153 (ISO 1042)⁽¹⁾.

7 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu thử

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.

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

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

³⁾ Dynagard DG 4P/110/200 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.

⁴⁾ Các hệ thống thích hợp có sẵn từ Dionex (<http://www.dionex.com>), Separations Analytical Instruments (<http://www.separations.nl>), Spark (<http://www.sparkholland.com>) và VWR-Hitachi (<http://www.vwr.com>). Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng các sản phẩm của các nhà cung cấp này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.

8 Chuẩn bị mẫu

8.1 Mẫu chuẩn hiệu chuẩn

8.1.1 Dầu dạng lỏng

Lắc nhẹ mẫu chuẩn hiệu chuẩn để đồng hóa mẫu hoàn toàn. Mở nắp lọ và chuyển mẫu chuẩn hiệu chuẩn sang xyranh dùng một lần (6.4) được trang bị bộ lọc cỡ lỗ 0,45 μm (6.3). Lọc mẫu chuẩn hiệu chuẩn vào lọ (6.1) khác và đậy nắp. Chuẩn bị ba mẫu chuẩn hiệu chuẩn nồng độ 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Phân tích các mẫu chuẩn hiệu chuẩn này trước để cân bằng hệ thống.

8.1.2 Dầu cọ, dầu dừa và chất béo đông cứng

Để ngăn hiện tượng kết tinh, pha loãng dầu dừa, sử dụng hệ số pha loãng tối thiểu là 1 với mẫu trắng dầu hướng dương (5.3.3). Pha loãng dầu cọ, sử dụng hệ số pha loãng là 5 với mẫu trắng dầu hướng dương (5.3.3). Hệ số pha loãng đối với chất béo đông cứng phụ thuộc vào trị số iot của chất béo (mức độ đông cứng).

Làm nóng dầu cọ, dầu dừa hoặc chất béo đông cứng như sau:

Làm nóng sơ bộ lọ chứa dầu dừa hoặc dầu cọ đã đậy nắp ở khoảng 60 °C trong nồi cách thủy hoặc tủ sấy trong khoảng 20 min. Lắc nhẹ vài phút để đồng nhất dầu.

Pha loãng chất béo đông cứng bằng dầu hướng dương ấm (5.3.3), sử dụng hệ số pha loãng từ 1 đến 5. Nếu chất béo pha loãng một lần vẫn kết tinh thì sử dụng tỉ lệ dầu hướng dương cao hơn. Tiến hành thử nghiệm sơ bộ đối với dầu đông cứng để tìm hệ số pha loãng tối ưu.

Cận một lượng dầu tương ứng với 1 ml hỗn hợp chất béo ấm, chính xác đến 0,000 1 g, cho vào lọ (6.1).

CHÚ THÍCH: Tỉ trọng tương đối của các loại dầu khác nhau được nêu trong Bảng 2.

Dùng xyranh (6.2) thêm 125 μl 2-propanol (5.1.3) và đậy lọ bằng nắp gấp mép. Lắc nhẹ mẫu chuẩn hiệu chuẩn để đồng nhất mẫu. Mở nắp lọ và chuyển mẫu chuẩn hiệu chuẩn vào xyranh dùng một lần (6.4) được nối với bộ lọc màng cỡ lỗ 0,45 μm (6.3).

Lọc mẫu chuẩn hiệu chuẩn vào trong lọ (6.1) khác và đậy lọ bằng nắp gấp mép. Nếu xuất hiện hiện tượng kết tinh thì làm nóng lọ chứa mẫu chuẩn hiệu chuẩn đến khi mẫu nóng chảy lại (xem 6.5).

ĐIỀU QUAN TRỌNG: Nếu không có bộ lấy mẫu tự động đã được làm nóng thì bơm ngay mẫu dạng lỏng. Không nên đặt lọ trong bộ lấy mẫu.

Chuẩn bị ba mẫu chuẩn ngoại hiệu chuẩn nồng độ 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Phân tích các mẫu chuẩn hiệu chuẩn này trước để cân bằng hệ thống.

Bảng 2 – Tỷ trọng tương đối của các loại dầu khác nhau

Loại dầu	Khối lượng 1 ml mg	Tỷ trọng tương đối
Oliu (OV)	914	0,914
Dừa (CN)	923	0,923
Đậu nành (BO)	916	0,916
Hướng dương (SF)	914	0,914
Lanh (RP)	913	0,913
Nhân cọ (PK)	918	0,918

8.2 Phần mẫu thử

Chuẩn bị phần mẫu thử từ các mẫu thử dầu mỡ sử dụng quy trình quy định đối với các mẫu chuẩn hiệu chuẩn trong 8.1.1 hoặc 8.1.2, tùy thuộc vào loại chất béo. Pha loãng mẫu thử có nồng độ PAH lớn hơn 3,5 µg/kg và phân tích lần thứ hai.

Chuẩn bị phần mẫu thử pha loãng bằng cách trộn khối lượng thích hợp của mẫu thử với mẫu dầu trắng (5.3.3) của cùng một loại để tổng khối lượng tương ứng với 1 ml.

Nếu hàm lượng các PAH (nhẹ) trong hầu hết các mẫu thử phân tích được dự kiến lớn hơn 3,5 µg/kg thì chỉnh dải đường chuẩn. Tuy nhiên, các dải vượt quá 3,5 µg/kg là hiện chưa được đánh giá xác nhận.

9 Cách tiến hành

9.1 Phân tích HPLC

Tạo ra một dãy trình tự bằng hệ thống xử lý dữ liệu sắc kí đồ (6.6). Đặt mẫu chuẩn hiệu chuẩn và phần mẫu thử vào bộ lấy mẫu tự động và khởi động hệ thống HPLC. Trình tự là:

- 2-propanol (5.1.3) – sắc kí đồ không được có các pic, các đỉnh, các biến dạng hoặc nhiễu nền có liên quan;
- ba mẫu chuẩn ngoại hiệu chuẩn để ổn định hệ thống;
- các mẫu chuẩn hiệu chuẩn (8.1);
- các phần mẫu thử dầu và mỡ (8.2);
- các mẫu chuẩn hiệu chuẩn thu được từ dịch pha loãng (8.1.2), nếu cần.

9.2 Nhận dạng các PAH

Nhận dạng các PAH có mặt trong sắc kí đồ bằng thời gian lưu của chúng. Ví dụ: sắc kí đồ đối với mẫu chuẩn hiệu chuẩn nêu trong Phụ lục F.

Nếu có dấu hiệu nghi ngờ về việc nhận dạng pic thì phân tích lại mẫu thử. Trong suốt quá trình phân tích, ghi lại phổ phát xạ và phổ kích thích của pic quan tâm. Các phổ này có thể được so sánh với phổ mẫu của các PAH. Nếu không thể sử dụng các bước sóng đã áp dụng (Phụ lục C) thì phân tích các phần mẫu thử và các mẫu chuẩn hiệu chuẩn ở các bước sóng khác nhau.

10 Tính các PAH riêng lẻ

Phần khối lượng của các PAH riêng lẻ, w_{PAH} , được tính bằng phương pháp ngoại chuẩn. Đối với trường hợp này thì đường hồi quy tuyến tính phải thích hợp đối với từng PAH riêng lẻ.

$$A_{PAH} = aw_{PAH} + b \quad (1)$$

Công thức (1) có thể được sắp xếp lại đối với phần khối lượng của từng PAH riêng lẻ, w_{PAH} , tính bằng microgam trên kilogam:

$$w_{PAH} = \frac{A_{PAH} - b}{a} \quad (2)$$

Trong đó:

- A_{PAH} là diện tích pic của một PAH riêng lẻ;
- w_{PAH} là hàm lượng PAH của mẫu từ đường chuẩn, tính bằng microgam trên kilogam ($\mu\text{g}/\text{kg}$);
- a là độ dốc của đường chuẩn;
- b là hệ số chặn của đường chuẩn.

Phần khối lượng của từng PAH riêng lẻ, w_{PAH} , được tính bằng microgam trên kilogam đến một chữ số thập phân.

11 Dữ liệu đánh giá xác nhận của phương pháp

11.1 Độ chính xác

Vật liệu chuẩn 458 do BCR chứng nhận (5.2.18) được phân tích sáu lần. Các kết quả được liệt kê trong Bảng 3.

Bảng 3 – Các kết quả phân tích đối với vật liệu chuẩn 458 do BCR chứng nhận

PAH	Trung bình sáu lần phân tích µg/kg	Hàm lượng cho bởi BCR µg/kg
Pyren	10,02	9,4 ± 1,5
Chrysen	5,00	4,9 ± 0,4
Benzo[k]fluoranthen	2,00	1,87 ± 0,18
Benzo[a]pyren	0,99	0,93 ± 0,09
Benzo[ghi]perylene	0,98	0,97 ± 0,07
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,99	1,00 ± 0,07

11.2 Độ chụm trong phòng thử nghiệm

Độ lặp lại trong phòng thử nghiệm được xác định đối với từng PAH riêng lẻ trong bốn chất nền mẫu: dầu oliu, dầu dừa, dầu đậu nành và dầu hướng dương. Các kết quả được thống kê trong Phụ lục G đến Phụ lục J.

11.3 Độ thu hồi

Độ thu hồi của các PAH không được nghiên cứu. Các mẫu đường chuẩn và mẫu dầu phải qua cùng một cách xử lý.

11.4 Dải nồng độ xác định

Dải nồng độ của đường chuẩn là từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg.

11.5 Giới hạn định lượng

Giới hạn định lượng của phương pháp là 0,1 µg/kg.

CHÚ THÍCH: Giới hạn định lượng của các PAH riêng lẻ là < 0,1 µg/kg trong bốn loại dầu nghiên cứu.

12 Độ chụm

12.1 Thử nghiệm cộng tác quốc tế

Một phép thử liên phòng do FEDIOL/CSL tổ chức từ năm 2005 đến 2006, trong đó có 16 phòng thử nghiệm đến từ bảy quốc gia tham gia cho các kết quả thống kê được đánh giá theo TCVN 9610-1 (ISO 5725-1) ^[3] và TCVN 9610-2 (ISO 5725-2) ^[4], nêu trong Bảng K.1.

Các giá trị về giới hạn tái lập và giới hạn lặp lại được biểu thị ở mức xác suất 95 % và có thể không áp dụng cho các dải nồng độ và các chất nền mẫu khác với các giá trị đã nêu.

12.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ, được lặp 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 giới hạn lặp lại, r , nêu trong Bảng K.1.

12.3 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 giới hạn tái lập, R , nêu trong Bảng K.1.

13 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) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- c) tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này cùng với mọi tình huống bất thường khác có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- d) kết quả và đơn vị trong kết quả được biểu thị.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Ví dụ về các bộ phận riêng lẻ của hệ thống HPLC**Bảng A.1 – Thành phần hệ thống HPLC**

Bộ phận	Kiểu loại ^a	Nhà cung cấp ^a
Bộ khử khí trực tiếp (2)	GT-103	Separations
Bơm bốn dòng	480	Separations
Bộ lấy mẫu tự động	Ba bộ phận kết hợp: Van phụ trợ Xyranh 250 µl Vòng mẫu 250 µl	Separations
Đơn vị SPE		Chrompack
Bộ ổn định nhiệt độ của cột	Mistral	Separations
Detector huỳnh quang	FP-920	Separations
Cột DACC	ChromSher PI 80 × 3 mm	Chrompack
Cột phân tích	2 Pursuit 5 PAH, 250 × 4,6 mm	Chrompack
^a Thông tin sở hữu độc quyền đưa ra để tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng các sản phẩm này hoặc nhà cung cấp sản phẩm. Các sản phẩm và các nhà cung cấp tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.		

Phụ lục B
(Tham khảo)

Ví dụ về các điều kiện vận hành bơm của hệ thống HPLC

Bảng B.1 – Các điều kiện vận hành bơm của hệ thống HPLC điển hình

Bơm bốn dòng: Separations model 480^a								
Chất rửa giải (5.4):								
A: Axetonitril/nước								
B: Axetonitril								
C: Etyl axetat/axetonitril								
Chương trình gradient (các bước tuyến tính):								
Thời gian (min)	Tốc độ (µl)	% A	% B	% C		% nước	% axetonitril	% etyl axetat
0,0	400	100	0	0	→	15	85	0
2,0	400	100	0	0	→	15	85	0
2,5	1 000	100	0	0	→	15	85	0
12,0	1 000	40	60	0	→	6	94	0
20,0	1 000	30	70	0	→	4,5	95,5	0
30,0	1 000	30	70	0	→	4,5	95,5	0
51,0	1 000	0	0	100	→	0	30	70
70,3	1 000	0	0	100	→	0	30	70
71,0	1 500	0	100	0				
78,0	1 500	0	100	0				
78,5	1 500	100	0	0				
86,0	1 500	100	0	0				
86,1	400	100	0	0				
110,0	400	100	0	0				
110,1	0	100	0	0				
Chương trình thực hiện nối tiếp:								
Thời gian (min)	G	M	P					
0,0	0	0	0	Không hoạt động				
8,0	1	3	4	FP-920, thực hiện chế độ autozero				
8,5	1	4	4	FP-920, bắt đầu chương trình				
8,6	1	2	4	Bắt đầu giao diện thu thập dữ liệu				
78,0	1	3	4	FP-920, chế độ autozero				
Đơn vị SPE: Chromapack^a								
Chất rửa giải (5.4):								
D: chất rửa giải 2-Propanol, chất rửa giải DACC								
E: chất rửa giải etyl axetat/axetonitril, rửa giải bằng nước								
Tốc độ dòng: 0,35 ml/min								
^a Thông tin sở hữu độc quyền đưa ra để tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng các sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.								

Phụ lục C

(Tham khảo)

**Ví dụ về các điều kiện vận hành bộ ổn định nhiệt độ cột
và detector của hệ thống HPLC**

**Bảng C.1 – Các điều kiện vận hành bộ ổn định nhiệt độ cột và detector
của hệ thống HPLC điển hình**

Bộ ổn định nhiệt độ của cột: Mistral Separations ^a				
Nhiệt độ: 20,0 °C				
Detector huỳnh quang: Separations FP-920 ^a				
Chương trình LC:				
Thời gian min	Bước sóng phát xạ nm	Bước sóng kích thích nm	Tần số	PAH phát hiện được
0,0	280	400	100	Phenanthren
6,8			1 000	
6,8	353	420		Anthracen
8,1	350	500		Fluoranthren
9,8			100	
9,8	266	410		Pyren
13,0	280	420		1,2-Benzanthracen
17,5	261	400		Chrysen
21,0			1 000	
21,0	240	530		Benzo[a]fluoranthren
24,0	324	392		Benzo[e]pyren
26,0	346	438		Benzo[b]fluoranthren
				Perylen
31,0			100	
31,0	396	430		Benzo[k]fluoranthren
34,1	378	403		Benzo[a]pyren
37,4			1 000	
37,4	290	440		1,2,5,6-Dibenzoanthracen
39,6			100	
				1,12-Benzoperylen
1 000			1 000	
41,6	296	500		Indeno[1,2,3-cd]pyren
44,5			100	
44,5	298	438		Anthanthren
				Coronen
52,0	280	400		Kết thúc chương trình
CHÚ THÍCH: Bước sóng tối ưu của một số các PAH có thể không được sử dụng vì sắc kí đồ của các mẫu dầu thường cho các hợp chất gây nhiễu nền ở các bước sóng đó.				
^a Thông tin sở hữu độc quyền đưa ra để tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng các sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.				

Phụ lục D
(Tham khảo)

Ví dụ về chương trình bộ lấy mẫu tự động của hệ thống HPLC

Bảng D.1 – Các điều kiện vận hành bộ ổn định nhiệt độ cột và detector của hệ thống HPLC điển hình

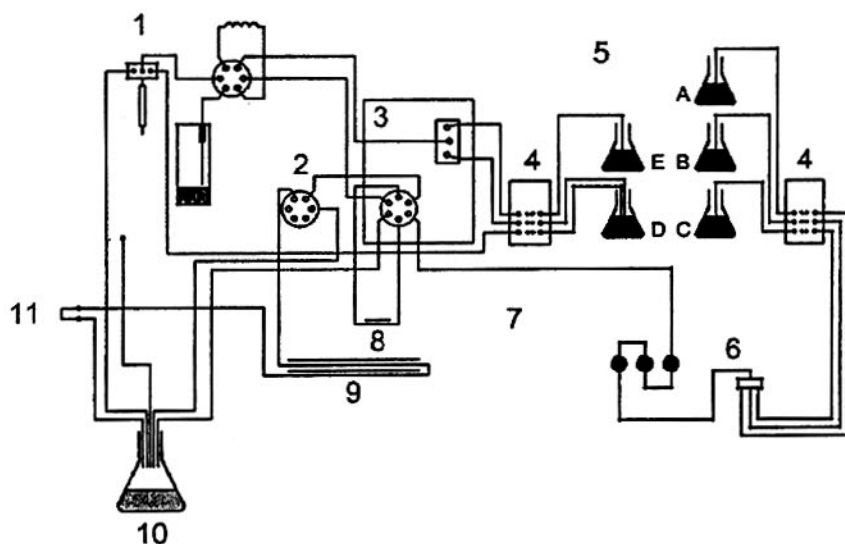
Bước	Dãy chương trình	Giải thích														
001	VỊ TRÍ VAN BƠM: NAP	Di chuyển bơm đến vị trí nạp														
002	THỂ TÍCH LÀM SẠCH KIM BƠM 1 000 µl	Làm sạch kim bơm bằng 1 000 µl														
003	HÚT 0 005 µl KHÔNG KHÍ TỐC ĐỘ: 1H: -- mm	Hút 5 µl không khí														
004	NÉN: BẮT	Tạo áp suất cho khoảng trống trong lọ đựng mẫu														
005	HÚT 0 245 µl MẪU TỐC ĐỘ: 1H: 02 mm	Hút 245 µl từ lọ đựng mẫu														
006	VỊ TRÍ VAN XYRANH: THẢI	Di chuyển van xyranh đến vị trí thải														
007	THỂ TÍCH XYRANH THẢI: 0 250 µl TỐC ĐỘ: 3	Phân phối 250 µl từ xyranh để thải														
008	VỊ TRÍ VAN XYRANH: TIÊM	Di chuyển van xyranh đến vị trí tiêm (để tiếp tục hút mẫu)														
009	HÚT 0 155 µl MẪU TỐC ĐỘ: 1 H: 02 mm	Hút 155 µl từ lọ đựng mẫu														
010	CHỜ 0:00:30	Chờ 30 s (để áp suất cân bằng)														
011	VỊ TRÍ VAN BƠM: BƠM	Di chuyển bơm đến vị trí bơm (bơm trên cột Pi ^b)														
012	HÚT 0 000 µl MẪU TỐC ĐỘ: H: 02 mm	Hút 0 µl từ lọ bơm mẫu (cần làm nguội kim tiêm trong lọ đựng mẫu)														
013	BƠM NÉN: TẮT	Dừng tạo áp suất khoảng trống trong lọ đựng mẫu														
014	THỂ TÍCH RỬA KIM BƠM 1 500 µl	Rửa kim tiêm bằng 500 µl														
015	CHỜ : ^a	Chờ (để kết thúc thời gian làm sạch) <table style="margin-left: 20px; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>Tổng thời gian làm sạch</td> <td>Thời gian bước 15</td> </tr> <tr> <td>CN</td> <td>8,30 min 00:06:40</td> </tr> <tr> <td>PK</td> <td>8,30 min 00:06:40</td> </tr> <tr> <td>OV</td> <td>10,00 min 00:08:10</td> </tr> <tr> <td>SF</td> <td>10,00 min 00:08:10</td> </tr> <tr> <td>BO</td> <td>10,00 min 00:08:10</td> </tr> <tr> <td>RP</td> <td>10,00 min 00:08:10</td> </tr> </table>	Tổng thời gian làm sạch	Thời gian bước 15	CN	8,30 min 00:06:40	PK	8,30 min 00:06:40	OV	10,00 min 00:08:10	SF	10,00 min 00:08:10	BO	10,00 min 00:08:10	RP	10,00 min 00:08:10
Tổng thời gian làm sạch	Thời gian bước 15															
CN	8,30 min 00:06:40															
PK	8,30 min 00:06:40															
OV	10,00 min 00:08:10															
SF	10,00 min 00:08:10															
BO	10,00 min 00:08:10															
RP	10,00 min 00:08:10															
016	VỊ TRÍ VAN ISS-B: 6-1	Tháo van phụ (để thải)														
017	CHỜ 0:00:05	Chờ 5 s (để kết thúc thời gian tẩy sạch cần thiết)														
018	CỬA PHỤ 1 MỞ	Hoạt động cửa phụ 1 (bắt đầu chương trình gradient của hệ thống HPLC)														
019	CHỜ 0:00:01	Chờ 1 s														
020	CỬA PHỤ 1 ĐÓNG	Ngừng hoạt động cửa phụ 1														
021	CỬA PHỤ 2 MỞ	Hoạt động cửa phụ 2 (cột Pi trong chế độ súc rửa để thải)														
022	CỬA PHỤ 3 MỞ	Hoạt động cửa phụ 3 (rửa giải dung dịch rửa giải làm sạch qua bộ phận SPE)														
023	CHỜ 0:02:25	Chờ (để kết thúc thời gian rửa giải của chế độ súc rửa để thải)														
024	VỊ TRÍ VAN ISS-B: 1-2	Di chuyển van trong (tới cột phân tích)														
025	CHỜ 0:05:00	Chờ 5 min (để kết thúc thời gian súc rửa)														
026	CỬA PHỤ 2 ĐÓNG	Ngừng hoạt động cửa phụ 2 (Cột Pi trong chế độ thông thường, rửa giải bằng dung dịch rửa giải làm sạch)														
027	CHỜ 0:20:00	Chờ 20 min (để kết thúc thời gian làm sạch của cột Pi)														
028	CỬA PHỤ 3 ĐÓNG	Ngừng hoạt động cửa phụ 3 (rửa giải dung môi rửa giải làm sạch qua cột Pi)														
029	CHỜ 0:47:00	Chờ 47 min (để kết thúc tổng thời gian phân tích)														
030	KẾT THÚC CHƯƠNG TRÌNH	Kết thúc chương trình														

^a Tổng thời gian làm sạch (tổng thời gian các bước từ 12 – 21) thay đổi tùy thuộc vào loại đầu.

^b Thông tin này đưa ra để tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định sử dụng các sản phẩm này. Các sản phẩm tương tự có thể được sử dụng nếu cho các kết quả tương đương.

Phụ lục E
(Tham khảo)

Các khớp nối ống của hệ thống HPLC



CHÚ DẪN:

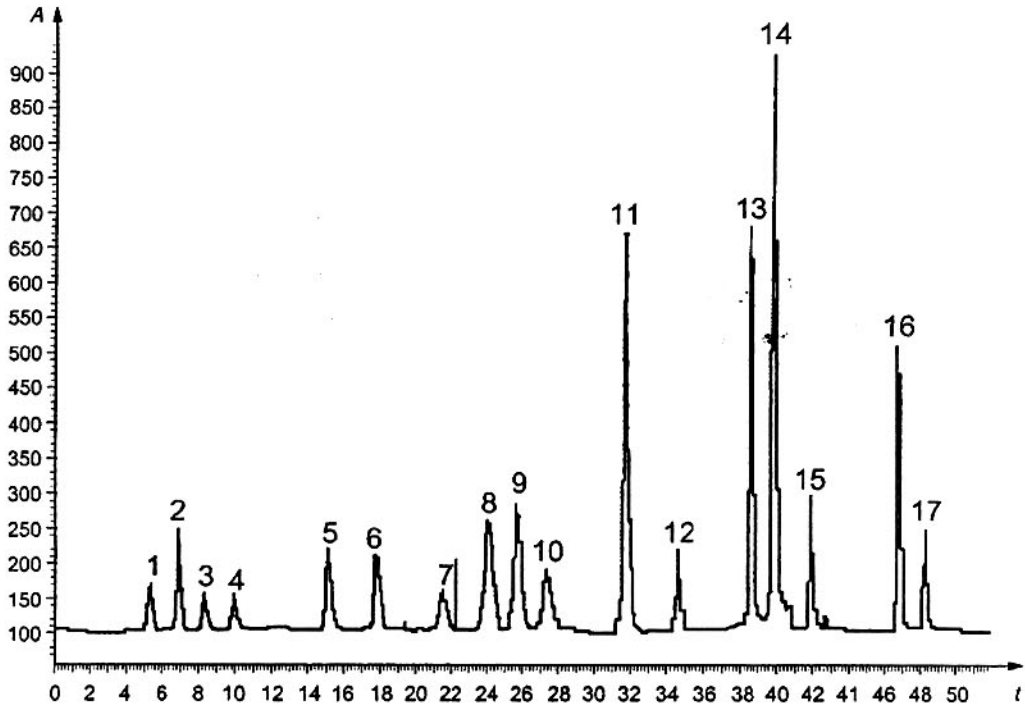
- 1 bộ lấy mẫu tự động
- 2 van phụ
- 3 bộ phận SPE
- 4 bộ khử khí
- 5 buồng dung môi
- 6 bơm HPLC
- 7 bộ kiểm soát nhiệt độ cột
- 8 cột DACC
- 9 cột phân tích
- 10 ống thải
- 11 detector huỳnh quang

- A axetonitril + 85 phần nước + 15 phần pha động
- B pha động axetonitril
- C/E axetonitril + 30 phần etyl axetat + 70 phần pha động
- D pha động 2-propanol

Hình E.1 – Các khớp nối ống

Phụ lục F
(Tham khảo)

Sắc kí đồ mẫu chuẩn hiệu chuẩn



CHÚ DẪN:

- | | |
|-----------------------|--------------------------|
| 1 phenanthren | 11 benzo[k]fluoranthen |
| 2 anthracen | 12 benzo[a]pyren |
| 3 fluoranthen | 13 dibenzo[a,h]anthracen |
| 4 pyren | 14 benzo[ghi]perylene |
| 5 benzo[a]anthracen | 15 indeno[1,2,3-cd]pyren |
| 6 chrysen | 16 anthanthren |
| 7 benzo[a]fluoranthen | 17 coronen |
| 8 benzo[a]pyren | |
| 9 benzo[b]fluoranthen | |
| 10 berylen | |
- A độ hấp thụ, đơn vị tùy ý
t thời gian, phút

Hình F.1 – Sắc kí đồ của mẫu chuẩn hiệu chuẩn

Phụ lục G
(Tham khảo)

**Độ chụm của phép xác định đối với dầu hướng dương,
dài nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg**

Bảng G.1 – Độ chụm của phép xác định dầu hướng dương

PAH	Độ lặp lại trong phòng thử nghiệm		
	$\sqrt{s_{R_w}}$	$\sqrt{(R_w - \text{giá trị})}$	$\sqrt{(CI)^a}$
Phenanthren ^b	0,027 7	0,078 3	0,055 9
Anthracen	0,011 3	0,032 0	0,022 7
Fluoranthren	0,017 5	0,049 5	0,035 1
Pyren	0,007 7	0,021 8	0,015 5
Benzo[a]anthracen	0,009 6	0,027 2	0,019 2
Chrysen	0,010 3	0,029 1	0,020 8
Benzo[a]fluoranthren	0,014 1	0,039 9	0,028 6
Benzo[e]pyren	0,010 1	0,028 6	0,020 4
Perylen	0,015 4	0,043 6	0,030 9
Benzo[k]fluoranthren	0,008 5	0,024 0	0,017 1
Benzo[a]pyren	0,008 4	0,023 8	0,016 9
Dibenzo[a,h]anthracen ^c	0,013 5	0,038 2	0,023 3
Benzo[ghi]perylene	0,008 8	0,024 9	0,017 6
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,009 4	0,026 6	0,018 8
Anthanthren	—	—	—
Coronen	0,007 8	0,022 1	0,015 6

^a Khoảng tin cậy 95 % đối với dài nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg.
^b Nếu hàm lượng phenanthren trong dầu hướng dương được ước tính là 3,0 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{3,0} + 0,055 9)^2 = 3,20 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{3,0} - 0,055 9)^2 = 2,81 \mu\text{g/kg}$
^c Nếu hàm lượng benzo[a]pyren trong dầu hướng dương được ước tính là 0,5 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{0,5} + 0,016 9)^2 = 0,52 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{0,5} - 0,016 9)^2 = 0,48 \mu\text{g/kg}$

Phụ lục H
(Tham khảo)

**Độ chụm của phép xác định đối với dầu oliu,
dải nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg**

Bảng H.1 – Độ chụm của phép xác định dầu oliu

PAH	Độ lặp lại trong phòng thử nghiệm		
	$\sqrt{s_{R_w}}$	$\sqrt{(R_w - \text{giá trị})}$	$\sqrt{(CI)}^a$
Phenanthren	0,015 1	0,042 7	0,030 4
Anthracen ^b	0,008 8	0,024 9	0,017 7
Fluoranthren	0,018 0	0,050 9	0,036 0
Pyren	0,010 7	0,030 3	0,021 5
Benzo[a]anthracen	0,009 1	0,025 7	0,018 3
Chrysen	0,006 8	0,019 2	0,013 6
Benzo[a]fluoranthren	0,013 5	0,038 2	0,027 5
Benzo[e]pyren	0,013 5	0,038 2	0,027 3
Perylen	0,018 3	0,051 8	0,036 6
Benzo[k]fluoranthren	0,007 1	0,020 1	0,014 3
Benzo[a]pyren	0,007 6	0,021 5	0,015 2
Dibenzo[a,h]anthracen ^c	0,009 1	0,025 7	0,018 3
Benzo[ghi]perylene	0,007 4	0,020 9	0,014 8
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,007 1	0,020 1	0,014 2
Anthanthren	—	—	—
Coronen	0,006 2	0,017 5	0,012 4

^a Khoảng tin cậy 95 % đối với dải nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg.
^b Nếu hàm lượng anthracen trong dầu oliu được ước tính là 1,0 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{1,0} + 0,017 7)^2 = 1,04 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{1,0} - 0,017 7)^2 = 0,96 \mu\text{g/kg}$
^c Nếu hàm lượng dibenzo[a,h]anthracen trong dầu oliu được ước tính là 0,2 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{0,2} + 0,018 3)^2 = 0,22 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{0,2} - 0,018 3)^2 = 0,18 \mu\text{g/kg}$

Phụ lục I
(Tham khảo)

**Độ chụm của phép xác định đối với dầu đậu nành,
dải nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg**

Bảng I.1 – Độ chụm của phép xác định dầu đậu nành

PAH	Độ lặp lại trong phòng thử nghiệm		
	$\sqrt{s_{R_w}}$	$\sqrt{(R_w - \text{giá trị})}$	$\sqrt{(CI)^a}$
Phenanthren	0,029 6	0,083 7	0,059 3
Anthracen	0,010 7	0,030 3	0,021 4
Fluoranthen	0,017 8	0,050 3	0,035 7
Pyren ^b	0,009 6	0,027 2	0,019 2
Benzo[a]anthracen	0,012 4	0,035 1	0,024 8
Chrysen	0,011 9	0,033 6	0,023 8
Benzo[a]fluoranthen	0,019 8	0,056 0	0,040 2
Benzo[e]pyren	0,010 7	0,030 3	0,020 8
Perylen	0,021 4	0,060 5	0,042 9
Benzo[k]fluoranthen	0,011 0	0,031 1	0,022 1
Benzo[a]pyren	0,009 5	0,026 9	0,019 0
Dibenzo[a,h]anthracen	0,010 4	0,029 4	0,021 0
Benzo[ghi]perylene ^c	0,008 9	0,025 2	0,017 8
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,011 5	0,032 5	0,023 1
Anthanthren	—	—	—
Coronen	0,007 3	0,020 6	0,014 6

^a Khoảng tin cậy 95 % đối với dải nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg.
^b Nếu hàm lượng pyren trong dầu đậu nành được ước tính là 2,0 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{2,0} + 0,019 2)^2 = 2,05 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{2,0} - 0,019 2)^2 = 1,95 \mu\text{g/kg}$
^c Nếu hàm lượng benzo[ghi]perylene trong dầu đậu nành được ước tính là 0,1 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{0,1} + 0,017 8)^2 = 0,11 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{0,1} - 0,017 8)^2 = 0,09 \mu\text{g/kg}$

Phụ lục J
(Tham khảo)

**Độ chụm của phép xác định đối với dầu dừa,
dải nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg**

Bảng J.1 – Độ chụm của phép xác định dầu dừa

PAH	Độ lặp lại trong phòng thử nghiệm		
	$\sqrt{s_{R_w}}$	$\sqrt{(R_w - \text{giá trị})}$	$\sqrt{(CI)^a}$
Phenanthren	0,019 0	0,053 7	0,038 0
Anthracen	0,011 2	0,031 7	0,022 5
Fluoranthren	0,017 2	0,048 5	0,034 4
Pyren	0,011 0	0,031 1	0,022 2
Benzo[a]anthracen ^b	0,012 0	0,033 9	0,024 0
Chrysen	0,013 5	0,038 2	0,027 2
Benzo[a]fluoranthren	0,016 0	0,045 2	0,033 0
Benzo[e]pyren	0,014 7	0,041 6	0,029 6
Perylen	0,023 0	0,065 2	0,046 2
Benzo[k]fluoranthren	0,009 0	0,025 4	0,018 1
Benzo[a]pyren	0,007 9	0,022 0	0,015 6
Dibenzo[a,h]anthracen	0,014 6	0,041 3	0,029 3
Benzo[ghi]perylene ^c	0,011 6	0,032 8	0,023 4
Indeno[1,2,3-cd]pyren	0,010 1	0,028 6	0,020 3
Anthanthren	0,013 6	0,038 5	0,027 5
Coronen ^c	0,007 0	0,020 0	0,014 1

^a Khoảng tin cậy 95 % đối với dải nồng độ từ 0,1 µg/kg đến 3,5 µg/kg.
^b Nếu hàm lượng benzo [a]anthracen trong dầu dừa được ước tính là 3,5 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{3,5 + 0,024 0})^2 = 3,59 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{3,5 - 0,024 0})^2 = 3,41 \mu\text{g/kg}$
^c Nếu hàm lượng coronen trong dầu dừa được ước tính là 0,3 µg/kg thì các khoảng tin cậy 95 % là:
 $(\sqrt{0,3 + 0,014 1})^2 = 0,32 \mu\text{g/kg}$
 $(\sqrt{0,3 - 0,014 1})^2 = 0,28 \mu\text{g/kg}$

Phụ lục K
(Tham khảo)

Phép thử liên phòng thử nghiệm

Một phép thử liên phòng thử nghiệm ở cấp quốc tế do FEDIOL/CSL tổ chức năm 2005/2006, trong đó có 16 phòng thử nghiệm tham gia, mỗi phòng thử nghiệm thu được hai kết quả đối với từng mẫu (cặp mẫu mù), cho các kết quả thống kê [được đánh giá theo TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994) ⁽⁴⁾] nêu trong Bảng K.1.

Bảng K.1 – Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

PAH	Số lượng phòng thử nghiệm *	Giá trị trung bình $\mu\text{g/kg}$	Độ lệch chuẩn lặp lại s_r $\mu\text{g/kg}$	Hệ số biến thiên lặp lại $CV(r)$ %	Giới hạn lặp lại $r = 2,8 s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập s_R $\mu\text{g/kg}$	Hệ số biến thiên tái lập $CV(R)$ %	Giới hạn tái lập $R = 2,8 s_R$
Dầu dừa 1								
Benzo[a]anthracen	13	0,50	0,07	13,6	0,19	0,10	19,8	0,28
Chrysen	14	0,87	0,12	13,6	0,33	0,19	22,1	0,54
Dibenzo[a,h]anthracen	12	1,15	0,04	3,1	0,10	0,10	9,1	0,29
Benzo[b]fluoranthen	13	0,58	0,05	8,3	0,13	0,10	16,7	0,27
Benzo[k]fluoranthen	12	2,95	0,11	3,6	0,30	0,29	9,9	0,82
Benzo[ghi]perylene	13	2,85	0,17	6,1	0,48	0,65	22,8	1,82
Benzo[a]pyren	12	2,63	0,07	2,8	0,21	0,27	10,3	0,76
Indeno[1,2,3-cd]pyren	13	2,84	0,23	8,2	0,65	0,79	27,6	2,20
Dầu dừa 2								
Benzo[a]anthracen	13	3,07	0,08	2,6	0,22	0,26	8,4	0,73
Chrysen	13	2,94	0,03	1,2	0,10	0,54	18,4	1,51
Dibenzo[a,h]anthracen	14	4,41	0,07	1,5	0,18	0,30	6,8	0,84
Benzo[b]fluoranthen	13	2,33	0,06	2,7	0,17	0,19	8,1	0,53
Benzo[k]fluoranthen	14	0,57	0,04	6,6	0,11	0,09	15,2	0,24
Benzo[ghi]perylene	11	0,67	0,05	8,1	0,15	0,17	25,2	0,47
Benzo[a]pyren	14	0,82	0,03	3,3	0,07	0,03	17,7	0,41
Indeno[1,2,3-cd]pyren	12	0,99	0,10	9,9	0,27	0,10	21,1	0,58
Dầu hướng dương 1								
Benzo[a]anthracen	16	1,00	0,08	7,7	0,22	0,13	13,5	0,38
Chrysen	14	0,49	0,05	11,0	0,15	0,13	26,5	0,36
Dibenzo[a,h]anthracen	16	1,45	0,08	5,2	0,21	0,14	9,4	0,38
Benzo[b]fluoranthen	13	0,54	0,03	6,4	0,10	0,07	13,1	0,20
Benzo[k]fluoranthen	16	2,44	0,16	6,5	0,44	0,27	11,2	0,77
Benzo[ghi]perylene	13	2,20	0,09	4,1	0,25	0,21	9,5	0,59
Benzo[a]pyren	14	2,95	0,11	3,8	0,31	0,28	9,5	0,78
Indeno[1,2,3-cd]pyren	13	2,72	0,21	7,6	0,58	0,49	17,9	1,36

Bảng K.1 (tiếp theo)

PAH	Số lượng phòng thử nghiệm ^a	Giá trị trung bình $\mu\text{g}/\text{kg}$	Độ lệch chuẩn lặp lại s_r $\mu\text{g}/\text{kg}$	Hệ số biến thiên lặp lại $CV(r)$ %	Giới hạn lặp lại $r = 2,8 s_r$	Độ lệch chuẩn tái lập s_R $\mu\text{g}/\text{kg}$	Hệ số biến thiên tái lập $CV(R)$ %	Giới hạn tái lập $R = 2,8 s_R$
Dầu hướng dương 2								
Benzo[a]anthracen	15	2,38	0,05	2,2	0,15	0,25	10,4	0,69
Chrysen	15	3,03	0,12	3,8	0,32	0,32	15,5	0,89
Dibenzo[a,h]anthracen	16	5,01	0,12	2,5	0,35	0,41	8,1	1,14
Benzo[b]fluoranthen	16	2,62	0,08	3,1	0,22	0,34	12,8	0,94
Benzo[k]fluoranthen	15	0,75	0,00	0,0	0,00	0,07	8,9	0,18
Benzo[ghi]perylene	15	0,77	0,07	9,4	0,20	0,22	28,9	0,62
Benzo[a]pyren	14	0,87	0,03	3,1	0,07	0,10	10,9	0,27
Indeno[1,2,3-cd]pyren	11	0,96	0,08	8,3	0,22	0,16	16,8	0,45
Dầu cọ								
Benzo[a]anthracen	10	0,53	0,00	0,0	0,00	0,11	20,0	0,30
Chrysen	10	0,91	0,10	10,8	0,27	0,18	19,5	0,49
Dibenzo[a,h]anthracen	12	0,84	0,04	4,2	0,10	0,14	16,4	0,38
Benzo[b]fluoranthen	12	0,85	0,06	6,8	0,16	0,14	16,6	0,39
Benzo[k]fluoranthen	12	0,75	0,13	16,9	0,36	0,14	18,8	0,40
Benzo[ghi]perylene	10	0,83	0,12	14,1	0,33	0,17	20,3	0,47
Benzo[a]pyren	11	0,78	0,04	5,5	0,12	0,17	21,2	0,46
Indeno[1,2,3-cd]pyren	10	0,95	0,14	15,3	0,41	0,22	23,1	0,62

^a Sau khi trừ ngoại lệ

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 7153 (ISO 1042), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức.*
 - [2] TCVN 2625 (ISO 5555), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu.*
 - [3] 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.*
 - [4] 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.*
 - [5] VAN STIJN, F., KERKHOFF, M.A.T., VANDEGINSTE, B.G.M. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fats by on-line donor-acceptor complex chromatography and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection, *J. Chromatogr. A* 1996, 750, pp. 263-273 .
-