

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10710:2015

ISO 12873:2010

Xuất bản lần 1

**DẦU ÔLIU VÀ DẦU BÃ ÔLIU – XÁC ĐỊNH
HÀM LƯỢNG SÁP BẰNG SẮC KÍ KHÍ MAO QUẢN**

*Olive oils and olive-pomace oils – Determination of wax content
by capillary gas chromatography*

HÀ NỘI – 2015

Lời nói đầu

TCVN 10710:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 12837:2010;

TCVN 10710:2015 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 ôliu và dầu bã ôliu – Xác định hàm lượng sáp bằng sắc kí khí mao quản

Olive oils and olive-pomace oils – Determination of wax content by capillary gas chromatography

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp xác định hàm lượng sáp của dầu ôliu và dầu bã ôliu, tính bằng miligam trên kilôgam. Các loại sáp riêng rẽ được tách theo số lượng nguyên tử carbon. Phương pháp này được khuyến cáo để phân biệt giữa dầu ôliu thu được bằng cách ép hoặc li tâm và dầu ôliu thu được từ bã dầu ôliu (dầu bã ôliu) ^[4].

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 sáp (wax content)

Phần khối lượng của các chất trong mẫu được xác định bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Hàm lượng sáp được tính bằng miligam trên kilôgam.

4 Nguyên tắc

Sau khi bổ sung chất chuẩn nội thích hợp, dầu được tách phân đoạn bằng máy sắc kí trên cột silica gel đã hydrat hóa. Phân đoạn được rửa giải trong các điều kiện thử nghiệm (dầu có độ phân cực thấp hơn độ phân cực của các triglycerid) được thu hồi và phân tích bằng sắc kí khí mao quản.

5 Thuốc thử

CẢNH BÁO – Cần chú ý mọi qui định về xử lý các chất gây nguy hại. Các tổ chức và cá nhân phải tuân thủ các biện pháp về an toàn kỹ thuật.

Trong suốt quá trình phân tích, chỉ sử dụng các thuốc thử đạt chất lượng tinh khiết phân tích, nước cất hoặc nước đã khử khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương trừ khi có các qui định khác.

5.1 Silica gel, cỡ hạt từ 60 µm đến 200 µm, được chuẩn bị như sau: đặt gel vào lò buồng ở 500 °C ít nhất 4 h; để nguội, rồi thêm 2 % nước tương ứng với khối lượng silica gel được sử dụng; lắc đều để đồng hóa hồ nhão. Bảo quản hồ nhão ở nơi tối ít nhất 12 h trước khi sử dụng.

5.2 n-Hexan, loại dùng cho sắc ký.

5.3 Diethyl ete, loại dùng cho sắc ký.

5.4 n-Heptan, loại dùng cho sắc ký.

5.5 Chất chuẩn nội, dung dịch lauryl arachidat trong hexan, nồng độ khối lượng 0,1 g/100 ml.

CHÚ THÍCH Có thể sử dụng palmityl palmitat hoặc myristyl stearat.

5.6 Sudan I (1-phenylazo-2-naphthol).

5.7 Khí mang: khí hydro hoặc heli, loại dùng cho sắc kí khí.

5.8 Các loại khí phụ trợ: khí hydro, không bị ẩm và không chứa các chất hữu cơ, không khí nhân tạo, loại dùng cho sắc kí khí.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

6.1 Bình nón, dung tích 25 ml.

6.2 Cột thủy tinh dùng cho sắc kí lỏng, đường kính 15,0 mm, dài từ 30 cm đến 40 cm, có nắp đậy.

6.3 Máy sắc kí khí, thích hợp để sử dụng với cột mao quản, được trang bị các phụ kiện như trong 6.3.1 đến 6.3.5.

6.3.1 Bộ bơm lên cột lạnh.

6.3.2 Lò cột kiểm soát được nhiệt độ và đặt được chương trình nhiệt độ.

6.3.3 Detector ion hóa ngọn lửa.

6.3.4 Hệ thống tích phân dùng máy tính.

6.3.5 Cột mao quản, silica nóng chảy, dài từ 8 m đến 12 m, đường kính trong từ 0,25 mm đến 0,32 mm, có pha lỏng SE-52 hoặc SE-54¹⁾ hoặc tương đương, có độ dày màng từ 0,10 µm đến 0,30 µm.

6.4 Microxyranh dùng để bơm lên cột, dung tích 10 µl, có kim tiêm.

6.5 Máy lắc điện.

6.6 Bộ cô quay.

6.7 Lò buồng.

6.8 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 0,1 mg.

7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 (ISO 5555) ^[1].

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải 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).

9 Cách tiến hành

9.1 Chuẩn bị cột sắc kí

Phân tán 15 g silicagel (5.1) trong *n*-hexan (5.2) và đưa lên cột sắc kí (6.2). Để lắng. Dùng máy lắc điện (6.5) để hỗ trợ trong khi lắng hoàn toàn để cho dải sắc kí đồng nhất hơn. Chiết bằng 30 ml *n*-hexan để

¹⁾ SE-52 và SE-54 là ví dụ về sản phẩm phù hợp bán sẵn. Thông tin này đưa ra để tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

TCVN 10710:2015

loại bỏ hết tạp chất. Cân khoảng 500 mg mẫu, chính xác đến 0,1 mg cho vào bình nón 25 ml (6.1) rồi thêm một lượng chất chuẩn nội thích hợp (5.5) tùy thuộc vào hàm lượng sáp giả định. Thêm 0,1 mg lauryl arachidat vào dung dịch chuẩn nội (5.5) đối với dầu ôliu, và từ 0,25 mg đến 0,50 mg đối với dầu bã ôliu.

Chuyển phần mẫu thử sang cột sắc kí bằng cách dùng hai phần *n*-hexan, mỗi phần 2 ml.

Tháo dung môi cho đến khi còn đến 1 mm cao hơn đỉnh của chất hấp phụ. Chiết tiếp bằng 70 ml *n*-hexan để loại bỏ hết các *n*-alkan có mặt tự nhiên. Sau đó bắt đầu rửa giải sắc kí bằng cách thu lấy 180 ml hỗn hợp 99 ml/100 ml *n*-hexan (5.2) và 1 ml/100 ml dietyl ete (5.3) ml ở tốc độ khoảng 15 giọt trong 10 s. Thực hiện sắc kí cột ở nhiệt độ phòng.

Chuẩn bị hỗn hợp *n*-hexan-dietyl ete mới trong ngày sử dụng.

Kiểm tra sự rửa giải hoàn toàn chất sáp bằng cách thêm 100 µl dung dịch thuốc nhuộm Sudan I (5.6) ở nồng độ 1 g/100 ml vào dung dịch mẫu thử. Thuốc nhuộm được giữ lại trên cột sắc kí giữa sáp và các triglycerid. Vì vậy, khi thuốc nhuộm chạm đáy cột thì ngừng rửa giải vì tất cả các sáp đã được rửa giải hết.

Làm bay hơi phân đoạn thu được bằng bộ cô quay (6.6) cho đến khi gần như loại hết dung môi. Loại bỏ 2 ml dung môi cuối cùng dưới dòng nitơ yếu rồi thêm từ 2 ml đến 4 ml *n*-heptan.

9.2 Phân tích sắc kí khí

9.2.1 Qui trình sơ bộ

Nếu cột được dùng lần đầu, thì nên ổn định cột. Cho dòng khí nhẹ đi qua cột, rồi bật máy sắc kí khí. Đun nóng từ từ trong khoảng 4 h cho đến khi nhiệt độ đạt 350 °C.

Duy trì nhiệt độ này ít nhất 2 h rồi điều chỉnh thiết bị đến các điều kiện vận hành (dòng khí, ngọn lửa, nhiệt độ cột, detector, v.v...). Ghi lại tín hiệu ở độ nhạy cao hơn độ nhạy yêu cầu đối với phép phân tích ít nhất hai lần. Đường nền phải tuyến tính, không có bất kì pic nào và đường nền không bị trôi. Nếu đường nền trôi âm là do việc kết nối cột không đúng, còn nếu đường nền trôi dương là việc ổn định cột chưa đủ.

9.2.2 Các điều kiện vận hành

Khuyến cáo các điều kiện vận hành sau đây:

- Nhiệt độ cột:
 - đẳng nhiệt ở 80 °C trong 1 min,
 - tăng tốc độ ở 20 °C/min đến 240 °C,

- tăng tốc độ ở 5 °C/min đến 325 °C; đẳng nhiệt 5 min ở 325 °C,
- tăng tốc độ ở 20 °C/min đến 340 °C; đẳng nhiệt 10 min ở 340 °C
- nhiệt độ detector: 350 °C;
- thể tích bơm: 1 µl dung dịch *n*-heptan;
- khí mang: khí heli hoặc hydro ở tốc độ tuyến tính tối ưu đối với khí được chọn (xem Phụ lục C).

Vì nhiệt độ cột cuối cùng 340 °C là cao, nên có thể cho phép trôi dương, nhưng không được quá 10 % giá trị toàn thang đo.

Các điều kiện này phải được cải biến để phù hợp với các đặc tính của cột và máy sắc kí khí để tách được tất cả sáp và để tách được pic (xem Hình A.1). Thời gian lưu của chất chuẩn nội phải là (18 ± 3) min và pic đại diện nhất của sáp phải trên 60 % toàn thang đo.

9.3 Tiến hành phân tích

Dùng microxyranh dung tích 10 µ (6.4) lấy 1 µl dung dịch; kéo ngược pittông cho đến khi kim tiêm rỗng. Cho kim tiêm vào trong hệ thống bơm và bơm nhanh sau 1 s đến 2 s. Sau khoảng 5 s, tháo nhẹ kim tiêm. Ghi lại sắc kí đồ cho đến khi sáp được rửa giải hết. Đường nền luôn phải đáp ứng các điều kiện qui định.

9.4 Nhận biết pic

Nhận biết các pic từ thời gian lưu bằng cách so sánh chúng với các hỗn hợp sáp đã biết thời gian lưu, được phân tích trong cùng điều kiện.

Hình A.1 thể hiện sắc kí đồ phân đoạn sáp của dầu ôliu nguyên chất.

10 Phân tích định lượng và biểu thị kết quả

Xác định diện tích của các pic tương ứng với chất chuẩn nội và các este béo từ C₄₀ đến C₄₆ và tính hàm lượng sáp, w_w , bằng miligam trên kilôgam dầu, theo công thức sau:

$$w_w = \left(\sum_i \frac{A_i m_{IS}}{A_{IS} m} \right) \times 1000$$

Trong đó

- A_i là diện tích pic của từng pic este từ C₄₀ đến hết C₄₆ ;
- A_{IS} là diện tích pic của pic chuẩn nội;
- m_{IS} là khối lượng chất chuẩn nội được thêm vào, tính bằng miligam (mg);
- m là khối lượng phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

Báo cáo tổng hàm lượng của các sáp khác nhau từ C_{40} đến C_{46} , bằng miligam trên kilôgam đến một chữ số thập phân.

Các thành phần để định lượng liên quan đến các pic có số lượng carbon số chẵn trong số các este từ C_{40} đến C_{46} (xem sắc kí đồ phân đoạn sáp của dầu ôliu trong Hình A.1). Nếu pic este C_{46} bị phân tách, thì nên phân tích phân đoạn sáp của dầu bã ôliu, trong đó pic C_{46} là pic chiếm ưu thế.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

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

11.2 Độ lặp lại

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

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng một phương pháp thử, tiến hành trên cùng một vật liệu thử, thực hiện trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do các người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không được quá 5 % các trường hợp vượt quá giá trị, R , nêu trong Bảng B.1.

12 Báo cáo thử nghiệm

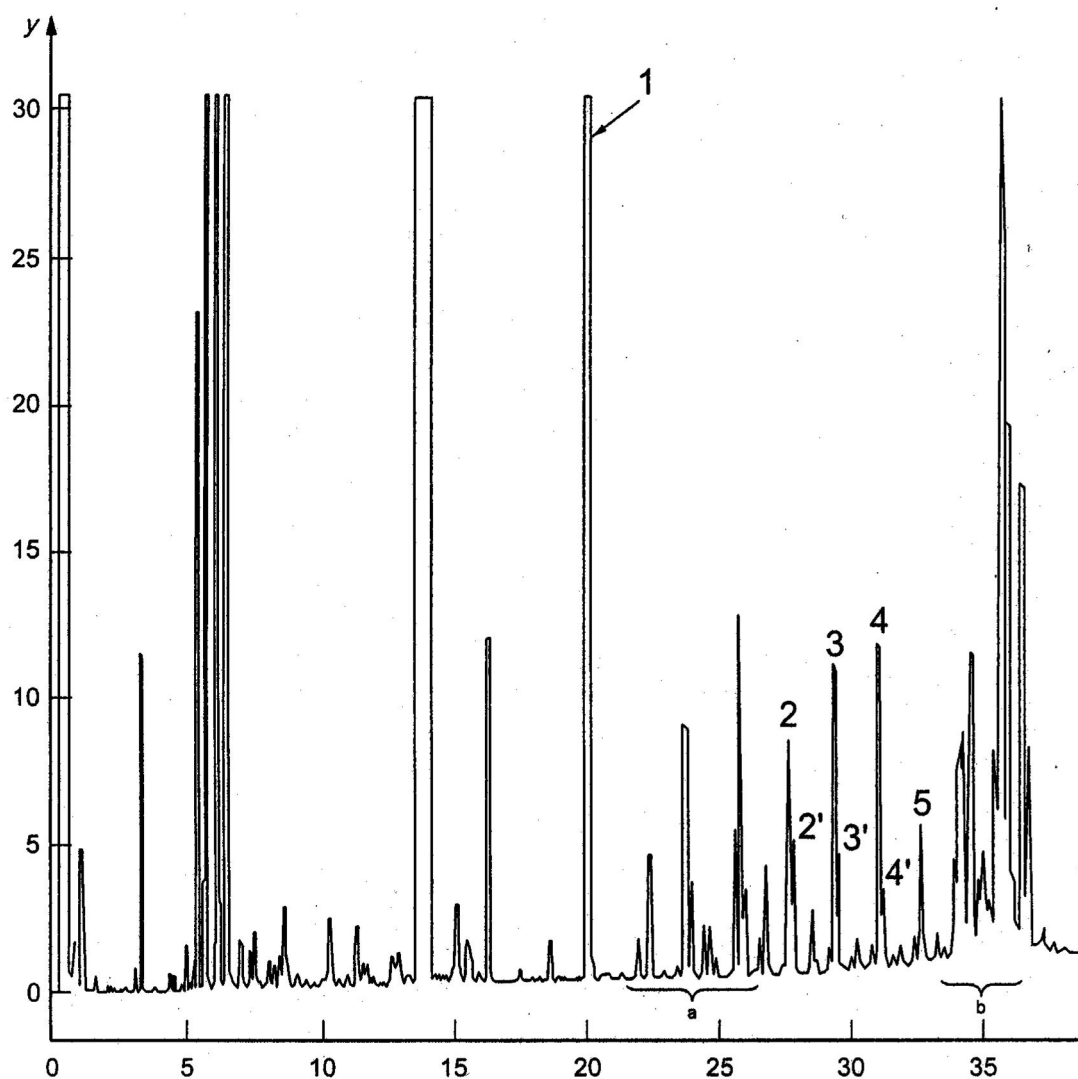
Báo cáo thử nghiệm phải ít nhất bao gồm các thông tin sau đây:

- a) mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) kết quả thử nghiệm thu được;
- e) nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.
- f) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được coi là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Sắc kí đồ



CHÚ DẪN

1	lauryl arachidate	5	các este C ₄₆
2, 2'	các este C ₄₀	<i>t</i>	thời gian
3, 3'	các este C ₄₂	<i>y</i>	số đo cỡ pic tương ứng, đơn vị tùy chọn
4, 4'	các este C ₄₄		

CHÚ THÍCH Sau khi rửa giải các este^b sterol, sắc kí đồ không được có bất kỳ pic đáng kể nào (các triglycerid).

^a các este diterpenic.

^b các este sterol và các ancol triterpenic.

Hình A.1 – Sắc kí đồ phân đoạn sáp của dầu ôliu

Phụ lục B

(Tham khảo)

Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Dữ liệu về độ chụm trong Bảng B.1 được lấy từ các kết quả của phép thử nghiệm cộng tác quốc tế.

Phép thử liên phòng thử nghiệm do Ban thư ký của hội đồng dầu quốc tế (IOC) tổ chức vào năm 1999. Các bên tham gia gồm 19 phòng thử nghiệm được IOC công nhận từ 8 quốc gia. Phép thử được thực hiện trên năm mẫu.

Các kết quả thử nghiệm đã được phân tích thống kê theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[2] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[3] cho các dữ liệu về độ chụm nêu trong Bảng B.1. Các ngoại lệ đã được kiểm tra bằng các phép thử Cochran và Grubbs.

Bảng B.1 – Các kết quả thống kê

Thông số	A	B	C	D	E
	Dầu ôliu nguyên chất đặc biệt	Dầu ôliu nguyên chất/dầu hướng dương tinh luyện	Dầu ôliu nguyên chất/dầu đậu nành tinh luyện /dầu bã ôliu tinh luyện	Dầu ôliu nguyên chất /dầu đậu nành tinh luyện/dầu hướng dương tinh luyện	Dầu ôliu tinh luyện/dầu bã ôliu tinh luyện/dầu đậu nành tinh luyện /dầu ôliu nguyên chất dùng để đốt (lampante)
Số lượng các phòng thử nghiệm tham gia, n_p	19	19	19	19	19
Số lượng các phòng thử nghiệm được giữ lại sau khi trừ ngoại lệ, n_p	14	14	15	16	14
Số lượng kết quả trong tất cả các phòng thử nghiệm, n_t	38	38	38	38	38
Hàm lượng sáp trung bình, \bar{w}_w , mg/kg	120,32	123,14	222,41	174,10	345,93
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , mg/kg	3,39	4,48	3,75	4,72	5,32
Hệ số biến thiên lặp lại, $C_{V,r}$, %	2,8	3,6	1,7	2,7	1,5
Giới hạn lặp lại, r , mg/kg	9,51	12,56	10,51	12,22	14,91
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , mg/kg	13,86	17,46	21,04	9,16	15,85
Hệ số biến thiên tái lập, $C_{V,R}$, %	11,5	14,2	9,5	5,3	4,6
Giới hạn tái lập, R , mg/kg	38,83	48,89	58,93	25,65	44,39

Phụ lục C

(Tham khảo)

Xác định vận tốc tuyến tính của khí

Bơm từ 1 μl đến 3 μl metan hoặc propan vào máy sắc kí khí ở các điều kiện vận hành chuẩn và ghi lại thời gian rửa giải, t , đối với metan hoặc propan.

Vận tốc tuyến tính, tính bằng xentimet trên giây, được tính bằng công thức :

$$v = \frac{L}{t}$$

Trong đó

L là chiều dài cột, tính bằng xentimet (cm) ;

t là thời gian đo, tính bằng giây (s).

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] COI/T.20/Doc. 18:2007, Method of analysis: Determination of wax content by capillary column gas chromatography.
-