

TCVN 10715-1:2015

ISO 23275-1:2006

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
ĐƯƠng LƯỢNG BƠ CACAO TRONG BƠ CACAO
VÀ SÔCÔLA THÔNG DỤNG –
PHẦN 1: XÁC ĐỊNH SỰ CÓ MẶT
ĐƯƠng LƯỢNG BƠ CACAO**

Animal and vegetable fats and oils –

Cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate –

Part 1: Determination of the presence of cocoa butter equivalents

HÀ NỘI – 2015

Lời nói đầu

TCVN 10715-1:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 23275-1:2006;

TCVN 10715-1:2015 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;

Bộ tiêu chuẩn TCVN 10715 (ISO 23275), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Đo lường bơ cacao trong bơ cacao và sôcôla thông dụng* gồm có các phần sau:

- TCVN 10715-1:2015 (ISO 23275-1:2006), *Phần 1: Xác định sự có mặt đường lượng bơ cacao*;
- TCVN 10715-2:2015 (ISO 23275-2:2006), *Phần 2: Định lượng đường lượng bơ cacao*.

Lời giới thiệu

“Đường lượng bơ cacao” là thuật ngữ chung dùng cho các chất béo được sử dụng để thay thế cho bơ cacao trong sôcôla. Chúng có thành phần hóa học và các đặc tính vật lý rất giống bơ cacao, vì vậy rất khó để định lượng và thậm chí trong một số trường hợp rất khó để phát hiện. Về nguyên tắc, đường lượng bơ cacao phải có hàm lượng chất béo axit lauric thấp, giàu triacylglycerol chưa bão hòa đơn đối xứng của loại 1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol, 1-palmitoyl-oleoyl-3-stearoylglycerol và 1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol, có thể trộn lẫn với bơ cacao và chỉ thu được bằng cách tinh luyện và phân đoạn.

Trong khối liên minh Châu Âu, thì các chất béo thực vật thu được từ các thực vật liệt kê dưới đây, có thể được sử dụng đơn lẻ hoặc hỗn hợp, phù hợp với Hướng dẫn 2000/36/EC ^[1]:

- illipé, mỡ động vật Borneo hoặc tengkawang (*Shorea* spp.),
- dầu cọ (*Elaeis guineensis*, *Elaeis olifera*),
- cây chai (*Shorea robusta*),
- cây hạt mỡ (*Butyrospermum parkii*),
- kokum gurgi (*Garcinia indica*), và
- hạt xoài (*Mangifera indica*).

Tiêu chuẩn này qui định qui trình phát hiện các loại chất béo này (chỉ hạn chế đối với các mẫu chất béo illipé tinh khiết) trong bơ cacao và sôcôla thông dụng. TCVN 10715-2 (ISO 23275-2) qui định qui trình đáng tin cậy định lượng các chất béo này ở mức 5 %, phù hợp với giới hạn qui định trong Hướng dẫn 2000/36/EC ^[1] của Nghị Viện và Hội đồng Châu Âu.

Để thuận tiện cho việc sử dụng cả hai tiêu chuẩn TCVN 10715-1 (ISO 23275-1) và TCVN 10715-2 (ISO 23275-2), sổ tay phân tích có tên là “CoCal-1” đã được thiết lập. “CoCal-1” bao gồm các phương pháp đã được đánh giá xác nhận để phát hiện (phần 1) và định lượng (phần 2) CBE trong sôcôla thông dụng và chất chuẩn bơ cacao đã được chứng nhận (IRMM-801) để hiệu chuẩn thiết bị phân tích và bảng đánh giá điện tử Microsoft Excel® để tính kết quả cuối cùng. Một nhóm phân tích tiến hành phát hiện và định lượng CBE để hiệu chuẩn hệ thống tách bằng sắc ký khí, sử dụng IRMM-801, tách các phân đoạn triglycerid của mẫu theo yêu cầu và dùng bảng đánh giá điện tử xử lý dữ liệu tiếp theo để phát hiện và định lượng CBE.

Thông tin về “CoCal-1” sẵn có trên website của Viện đo lường và chất chuẩn (Institute for reference materials and measurements): <http://www.irmm.jrc.be>.

Dầu mỡ động vật và thực vật –

Đường lượng bơ cacao trong bơ cacao và sôcôla thông dụng –

Phần 1: Xác định sự có mặt đường lượng bơ cacao

Animal and vegetable fats and oils –

Cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate –

Part 1: Determination of the presence of cocoa butter equivalents

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định qui trình phát hiện đường lượng bơ cacao (CBE) trong bơ cacao (CB) và sôcôla thông dụng bằng phân tích sắc ký khí mao quản độ phân giải cao (HR-GC) các triacylglycerol và đánh giá dữ liệu sau đó bằng phân tích hồi qui.

Phương pháp này có giới hạn phát hiện 2 % CBE trộn lẫn vào bơ cacao, tương ứng với khoảng 0,6 % CBE trong sôcôla (nghĩa là hàm lượng chất béo của sôcôla được giả định là 30 %).

2 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

2.1

Đường lượng bơ cacao (cocoa butter equivalents)

CBE

Các chất béo phát hiện được trong bơ cacao và sôcôla thông dụng theo qui trình qui định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Kết quả được biểu thị theo kết quả định tính, nghĩa là có các CBE hay không có các CBE (CÓ/KHÔNG).

3 Nguyên tắc

Bơ cacao hoặc chất béo từ sôcôla thông dụng thu được bằng cách chiết trong dung môi, được tách bằng HR-GC thành các phân đoạn triacylglycerol theo khối lượng phân tử và mức chưa bão hòa của

chúng. Sự có mặt của CBE được phát hiện bằng phân tích hồi qui tuyến tính, áp dụng cho các phân đoạn triacylglycerol đơn lẻ của chất béo được phân tích.

4 Thuốc thử và vật liệu

Chỉ sử dụng các thuốc thử đạt chất lượng tinh khiết phân tích, trừ khi có các qui định khác.

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.

4.1 Chất chuẩn bơ cacao đã được chứng nhận (CRM), IRMM-801 ^[2] dùng để hiệu chuẩn và kiểm tra sự phù hợp của hệ thống.

4.2 Dung môi chiết chất béo, các dung môi không bị clo hóa (ví dụ, diethyl ete, *n*-heptan, iso-octan).

5 Thiết bị, dụng cụ

5.1 Cân phân tích, có thể đọc được đến 0,1 mg.

5.2 Tủ sấy, duy trì được ở 55 °C.

Có thể sử dụng buồng sấy.

5.3 Máy nghiền trộn thực phẩm, máy trộn gia dụng có thiết kế mô tơ ở phía trên buồng trộn để tránh làm tan chảy mẫu¹⁾.

5.4 Máy cô quay.

Có thể sử dụng quy trình làm bay hơi khác.

5.5 Pipet, dung tích 1 ml.

5.6 Bình định mức, dung tích 20 ml.

5.7 Microxyranh, có thể tích tối đa 10 µl, được chia vạch đến 0,1 µl, hoặc **bộ lấy mẫu tự động**.

5.8 Máy sắc ký khí (GC), được gắn với hệ thống bơm lên cột lạnh và detector ion hóa ngọn lửa (FID).

Có thể sử dụng hệ thống bơm khác [ví dụ, bơm chia dòng, hóa hơi có cài đặt chương trình nhiệt độ (PTV) hoặc bơm có kim tiêm rời với điều kiện thu được các kết quả tương đương như trong 10.2.

¹⁾ Philips HR2833 là ví dụ về thiết bị bán sẵn.

Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

Việc tách và phát hiện sẽ đáp ứng yêu cầu khi tuân thủ các điều kiện thực nghiệm sau đây:

- cột GC: dài 25 m đến 30 m, đường kính trong 0,25 mm, silica nung chảy được phủ 50 % phenylmethylpolysiloxan chịu nhiệt có độ dày màng 0,1 μm đến 0,15 μm .
- chương trình nhiệt độ: 100 °C (nhiệt độ ban đầu), tốc độ tăng nhiệt 30 °C/min đến 340 °C (nhiệt độ cuối cùng).
- khí mang: heli hoặc hydro (độ tinh khiết $\geq 99,999$ %).

CHÚ THÍCH Các cột thích hợp và các điều kiện thực nghiệm khác sử dụng trong nghiên cứu cộng tác quốc tế, được nêu trong Phụ lục A. Có thể thay đổi các điều kiện vận hành để tách tối ưu các triacylglycerol của bơ cacao.

5.9 Hệ thống dữ liệu sắc ký.

6 Lấy mẫu

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.

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

7 Chuẩn bị mẫu thử

7.1 Chuẩn bị bơ cacao CRM dùng để hiệu chuẩn và kiểm tra sự phù hợp của hệ thống

Trước khi mở và sử dụng bơ cacao CRM (4.1), làm ấm ampun trong tủ sấy (5.2) cho đến khi lượng chứa bên trong tan chảy. Khi thu được dung dịch trong, trộn lượng chứa bằng cách đảo chiều ampun nhiều lần, ít nhất 20 s. Sau đó mở ampun rồi chuyển lượng chứa bên trong vào lọ sạch, làm kín khí rồi bảo quản nơi mát để sử dụng tiếp.

7.2 Chuẩn bị mẫu sôcôla

Làm lạnh khoảng 200 g sôcôla cho đến khi cứng và dùng máy nghiền trộn (5.3) nghiền thành hạt mịn, Trộn đều và bảo quản trong lọ có nắp đậy kín khí ở nơi mát.

8 Cách tiến hành

8.1 Chiết chất béo

Tách chất béo ra khỏi 10 g đến 40 g sôcôla nghiền (trong 7.2) bằng cách chiết hai hoặc ba lần, mỗi lần dùng 100 ml dung môi chiết chất béo (4.2). Ly tâm rồi gạn. Gộp các dịch chiết lại và cho bay hơi hầu hết các dung môi chiết chất béo bằng bộ cô quay (5.4), cuối cùng làm khô dưới dòng nitơ.

Có thể sử dụng quy trình chiết khác (ví dụ bằng chiết Soxhlet, bằng cacbon dioxit siêu tới hạn hoặc bằng cách sử dụng lò vi sóng) với điều kiện thu được các kết quả tương đương.

8.2 Tách các triacylglycerol riêng lẻ bằng HR-GC

Các mẫu thử [bơ cacao, chất béo được chiết từ sôcôla, bơ cacao CRM (4.1)] phải được làm ấm trong tủ sấy (5.2) cho đến khi tan chảy hoàn toàn. Nếu mẫu lỏng có chứa cặn, thì lọc mẫu bên trong tủ sấy để thu được dịch lọc trong. Dùng pipet (hoặc dụng cụ tương tự) để chuyển mẫu trong quá trình cân, đưa nhiệt độ tủ sấy (5.2) về khoảng 55 °C để tránh phân đoạn từng phần chất béo.

Cân khoảng 0,2 g mẫu thử cho vào bình định mức 20 ml (5.6) rồi thêm dung môi chiết chất béo thích hợp đến vạch. Dùng pipet (5.5) lấy 1 ml dung dịch này cho vào bình định mức 20 ml khác rồi thêm cùng một loại dung môi đến vạch.

Dùng hệ thống bơm lên cột lạnh bơm 0,5 µl đến 1,0 µl dung dịch thử nghiệm cuối cùng ($\rho_{\text{chất béo}} = 0,5 \text{ mg/ml}$) vào hệ thống HR-GC.

Có thể sử dụng bộ bơm mẫu và các lượng mẫu khác với điều kiện hệ thống detector cho độ nhạy tuyến tính và đáp ứng các tiêu chí phù hợp của hệ thống (10.2).

8.3 Nhận biết

Tiến hành nhận biết năm phân đoạn triacylglycerol chính [1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol (POP), 1-palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoyl-glycerol (POS), 1-palmitoyl-2,3-dioleoyl-glycerol (POO), 1,3-distearoyl-2-oleoyl-glycerol (SOS) và 1-stearoyl-2,3-dioleoylglycerol (SOO)] bằng cách so sánh thời gian lưu của mẫu thử với thời gian lưu của bơ cacao CRM (4.1). Thông thường, các triacylglycerol xuất hiện theo trật tự số lượng nguyên tử cacbon tăng dần và tăng dần theo số nguyên tử chưa bão hòa nếu cùng số nguyên tử cacbon. Thứ tự rửa giải của các triacylglycerol của bơ cacao CRM được nêu trong ví dụ về sắc ký đồ (Hình A.1).

9 Tính kết quả

9.1 Xác định các hệ số đáp ứng

Xác định các hệ số đáp ứng của các triacylglycerol POP, POS, POO, SOS và SOO bằng cách bơm dung dịch bơ cacao CRM, sử dụng các điều kiện thực nghiệm tương tự như đã sử dụng đối với mẫu. Tính phần trăm của từng phân đoạn trong số năm phân đoạn triacylglycerol bằng các công thức sau đây:

$$P_{\text{ref},i} = \frac{A_{\text{ref},i}}{\sum A_{\text{ref},i}} \times 100 \% \quad (1)$$

$$F_i = \frac{w_{ref,i}}{P_{ref,i}} \quad (2)$$

Trong đó

$P_{ref,i}$ là phần trăm triacylglycerol thứ i trong bơ cacao CRM (từ các diện tích pic);

$A_{ref,i}$ là diện tích pic của triacylglycerol thứ i trong bơ cacao CRM;

$\sum A_{ref,i}$ là tổng của các diện tích pic của POP, POS, POO, SOS, SOO trong bơ cacao CRM;

F_i là hệ số đáp ứng detector của triacylglycerol thứ i trong bơ cacao CRM;

$w_{ref,i}$ là phần khối lượng của triacylglycerol thứ i trong bơ cacao CRM như được nêu trong giấy chứng nhận ^[2], tính bằng phần trăm (%).

Báo cáo kết quả đến hai chữ số thập phân.

9.2 Tính phần trăm các triacylglycerol

Tính phần trăm các triacylglycerol POP, POS, và SOS trong mẫu thử bằng công thức:

$$w_{test,i} = \frac{F_i \times A_{test,i}}{\sum (F_i \times A_{test,i})} \times 100\% \quad (3)$$

Trong đó

$w_{test,i}$ là phần trăm khối lượng của triacylglycerol thứ i trong mẫu thử;

$A_{test,i}$ là diện tích tương ứng với triacylglycerol thứ i trong mẫu thử;

F_i là hệ số đáp ứng như xác định được trong 9.1.

9.3 Xác định mẫu có phải là bơ cacao tinh khiết hay không

Sự biến động về thành phần triacylglycerol của bơ cacao được tính bằng Công thức (4), dùng các triacylglycerol đã được chuẩn hóa, nghĩa là % POP + % POS + % SOS = 100 % khi xác định được trong Công thức (3):

$$POP = 43,734 - 0,733 \times SOS \quad (4)$$

(độ lệch chuẩn còn lại = 0,125)

Nguyên tắc của phương pháp là đối với các mẫu bơ cacao, POS thường là hằng số đối với các dao động lớn của POP và SOS dẫn đến mối quan hệ tuyến tính [còn được gọi là “đường CB” Công thức

(4)] giữa POP và SOS. Tất cả các hỗn hợp CB/CBE sẽ làm cho phép phân tích triacylglycerol bị lệch ra khỏi “đường CB” đến mức làm cho giá trị POS của chúng sai lệch khỏi giá trị POS của bơ cacao. Công thức (4) được thiết lập bằng cách sử dụng dữ liệu đã chuẩn hóa của biểu đồ triacylglycerol của 74 mẫu bơ cacao riêng lẻ chưa qua xử lý đã được đánh giá và xác nhận trong phòng thử nghiệm^[3]. Bơ cacao CRM (4.1) được sử dụng để chuẩn hóa phương pháp phân tích, áp dụng cho phép xác định biểu đồ triacylglycerol của bơ cacao.

99 % các phép phân tích bơ cacao tinh khiết cho thấy:

$$\text{POP} < 44,025 - 0,733 \times \text{SOS} \quad (5)$$

Giá trị cao hơn đối với POP theo Công thức (5), nghĩa là mẫu không phải là bơ cacao tinh khiết. Lợi thế khi tiếp cận xây dựng phương pháp là dùng bơ cacao CRM (4.1) để hiệu chuẩn, các phòng thử nghiệm đơn lẻ có thể sử dụng công thức toán học để xác minh độ tinh khiết của bơ cacao, mà không cần thiết lập “đường CB” như là một điều kiện tiên quyết. Hiệu chuẩn bằng bơ cacao CRM sẽ tự động liên kết các kết quả thu được trong phòng thử nghiệm với các cơ sở dữ liệu triacylglycerol của bơ cacao và nguyên tắc quyết định đã thiết lập [Công thức (5)].

10 Yêu cầu đối với qui trình

10.1 Yêu cầu chung

Các chi tiết của qui trình sắc ký phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác: thiết bị, loại cột, tuổi cột và nhà cung cấp cột, cách lấy dung dịch thử, cỡ mẫu và detector. Có thể sử dụng chiều dài, nhãn hiệu cột khác nhau và các thể tích bơm có thể được thay đổi, nếu đáp ứng được các yêu cầu của phép thử phù hợp của hệ thống (10.2).

10.2 Sự phù hợp của hệ thống

Sử dụng bơ cacao CRM (4.1) để kiểm tra sự phù hợp của hệ thống tách.

a) Độ phân giải

Hệ thống tách HR-GC phải có khả năng tách các cặp POS/POO và SOS/SOO có độ phân giải sắc ký ít nhất 1,0. Nếu không, cần tối ưu hóa các điều kiện sắc ký (ví dụ: cỡ mẫu, nhiệt độ cột, dòng khí mang).

b) Xác định các hệ số đáp ứng của detector

Để kiểm tra việc giả định hệ số đáp ứng detector ion hóa ngọn lửa của các triacylglycerol không chênh lệch đáng kể, bơ cacao CRM phải được phân tích ở các điều kiện GC chuẩn. Kinh nghiệm cho thấy rằng đối với hệ thống sắc ký hoạt động tốt thì hệ số đáp ứng đối với năm triacylglycerol chính (POP, POS, POO, SOS, SOO) dao động trong dải từ 0,80 đến 1,20.

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 A. 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.

CHÚ THÍCH Dữ liệu về độ chụm đối với ba triacylglycerol POP, POS và SOS (đã chuẩn hóa đến 100 %) nêu trong 11.2 và 11.3 có thể hỗ trợ việc xác minh hệ thống sắc ký hoạt động đúng.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm thử 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:

$r = 0,514 \text{ g/100 g}$	đối với các giá trị POP trong dải từ 18,99 g/100 g đến 25,37 g/100 g
$r = 0,293 \text{ g/100 g}$	đối với các giá trị POS trong dải từ 43,76 g/100 g đến 47,73 g/100 g
$r = 0,621 \text{ g/100 g}$	đối với các giá trị SOS trong dải từ 30,87 g/100 g đến 33,80 g/100 g

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm đơn lẻ thu được khi áp dụng cùng một phương pháp, tiến hành trên cùng mẫu thử, thực hiện 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 giá trị:

$R = 0,741 \text{ g/100 g}$	đối với các giá trị POP trong dải từ 18,99 g/100 g đến 25,37 g/100 g
$R = 0,588 \text{ g/100 g}$	đối với các giá trị POS trong dải từ 43,76 g/100 g đến 47,73 g/100 g
$R = 0,782 \text{ g/100 g}$	đối với các giá trị SOS trong dải từ 30,87 g/100 g đến 33,80 g/100 g

CHÚ THÍCH Các giới hạn lặp lại và tái lập thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm là các giá trị chỉ thị và có thể áp dụng cho các giá trị triacylglycerol nằm ngoài dải đã nêu (dữ liệu từ nghiên cứu mở rộng^[3]).

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm:

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

- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) 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;
- e) kết quả thử nghiệm thu được hoặc nếu đáp ứng yêu cầu về 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

Phương pháp này đã được đánh giá xác nhận năm 2002 trong phép thử liên phòng thử nghiệm Châu Âu với 13 quốc gia tham gia ^[4] ^[5]. Các kết quả thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này cho thấy qui trình thực hiện tốt với giới hạn phát hiện ít nhất 2 % CBE trộn lẫn vào CB, tương ứng với 0,6 % CBE trong sôcôla (hàm lượng chất béo của sôcôla được giả định là 30 %) không cho kết quả dương sai hoặc âm sai.

Bảng A.1 đưa ra các điều kiện GC thích hợp²⁾. Ví dụ về triacylglycerol của bơ cacao CRM nêu trong Hình A.1. Các kết quả về độ chụm được nêu trong Bảng A.2 đến A.4.

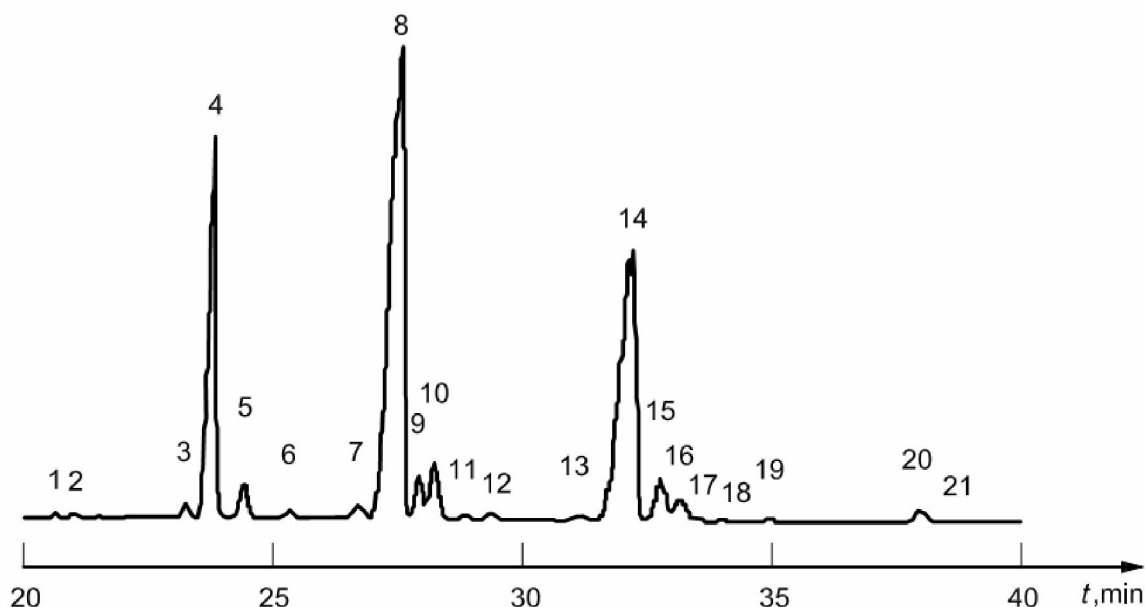
Bảng A.1 – Các điều kiện GC thích hợp được sử dụng để phân tích triacylglycerol của bơ cacao, CBE, hỗn hợp CB/CBE và sôcôla

Phương pháp có thể thực hiện	1	2	3	4	5
Đặc tính của cột:					
- Pha tĩnh	DB-17 HT	RTx-65TG	CB-TAP	RTx-65TG	CB-TAP
- chiều dài (m)	30	30	25	30	25
- đường kính trong (mm)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
- độ dày màng (μm)	0,15	0,1	0,1	0,1	0,1
Chế độ nhiệt độ (lò cột)					
- nhiệt độ bơm (°C)/thời gian giữ nhiệt (min)	80/2	340/1	280/0	100/0,5	340/0
- tốc độ chương trình 1 (°C/min)	50	1	10	50	1
- nhiệt độ 1 (°C)/thời gian giữ nhiệt (min)	300/0	-	320/0	320/2	-
- tốc độ chương trình 2 (°C/min)	30	-	2	1	-
- nhiệt độ 2 (°C)/thời gian giữ nhiệt (min)	-	-	-	-	-
- tốc độ chương trình 3 (°C/min)	-	-	-	-	-
- nhiệt độ cuối cùng (°C)/thời gian giữ nhiệt (min)	350/30	360/3	360/6	350/5	360/10
- nhiệt độ bơm (°C)	Nhiệt độ lò (oven track)	390	370	Nhiệt độ lò (oven track)	360
- nhiệt độ detector (°C)	360	370	370	355	360
Chế độ bơm	OCI	chia dòng	chia dòng	OCI	chia dòng
Khí mang:					
- loại	H ₂	H ₂	H ₂	He	He
- áp suất (kPa)	-	120	100	-	150
- tốc độ dòng (ml/min)	0,8	-	-	0,8	-
Mẫu:					
- nồng độ (mg/ml)	0,3	50	12,5	0,3	
- thể tích bơm (μl)	0,5	0,1	0,6	0,5	1

²⁾ Các loại cột này là các ví dụ về các sản phẩm phù hợp bán sẵn. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng và không ấn định phải sử dụng sản phẩm này.

Bảng A.1 (kết thúc)

Phương pháp có thể thực hiện	6	7	8	9	10	11
Đặc tính của cột:						
- pha tĩnh	RTX-65 TG	CB-TAP	DB-17HT	CB-TAP	CB-TAP	CB-TAP
- chiều dài (m)	30	25	30	25	25	25
- đường kính trong (mm)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
- độ dày màng (μm)	0,1	0,1	0,15	0,1	0,1	0,1
Chế độ nhiệt độ (lò cột)						
- nhiệt độ bơm ($^{\circ}\text{C}$)/thời gian giữ nhiệt (min)	200/0	100/0,1	50/2	200/2	100/1	200/2
- tốc độ chương trình 1 ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	15	70	50	20	30	12
- nhiệt độ 1 ($^{\circ}\text{C}$)/thời gian giữ nhiệt (min)	360/0	-	300/1	320/0	300/2	-
- tốc độ chương trình 2 ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	1	-	10	1	30	-
- nhiệt độ 2 ($^{\circ}\text{C}$)/thời gian giữ nhiệt (min)	-	-	340/2	-	-	-
- tốc độ chương trình 3 ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$)	-	-	0/5	-	-	-
- nhiệt độ cuối cùng ($^{\circ}\text{C}$)/thời gian giữ nhiệt (min)	370	350/21	345/26	360/10	340/35	350/10
- nhiệt độ bơm ($^{\circ}\text{C}$)	390	Nhiệt độ lò (oven track)	50	65-220-370	100	
- nhiệt độ detector ($^{\circ}\text{C}$)	390	360	360	370	360	360
Chế độ bơm	Chia dòng	OCI	OCI	OCI	OCI	OCI nóng
Khí mang:						
- loại	H_2	H_2	H_2	He	H_2	H_2
- áp suất (kPa)	150	-	120	90	150	-
- tốc độ dòng (ml/min)	-	1	-	-	-	2,4
Mẫu:						
- nồng độ (mg/ml)	10	15	0,5	1-2	0,5	0,65
- thể tích được bơm (μl)	0,5	0,5	0,5	0,1	0,4	0,3



Nhận biết pic: 1, PPP; 2, MOP; 3, PPS; 4, POP; 5, PLP; 6, chưa nhận biết; 7, PSS; 8, POS; 9, POO; 10, PLS; 11, PLO; 12, không xác định; 13, SSS; 14, SOS; 15, SOO; 16, SLS + OOO; 17, SLO; 18, không xác định; 19, không xác định; 20, SOA; 21, AOO

Các điều kiện thực nghiệm

Cột GC: 25 m × 0,25 mm cột mao quản silica nung chảy được phủ 0,1 μm Chrompack TAP

Nhiệt độ sấy: 100 °C giữ trong 1 min; 30 °C/min đến 340 °C giữ trong 35 min

Bơm: Bơm lên cột lạnh

Detector (FID): 360 °C

Khí mang: H₂ ở áp lực đầu 1,6 bar

Lượng được bơm: 0,5 μl của dung dịch 0,5 mg/ml

Các chữ viết tắt:

PPP: Tripalmitin

MOP: 1-Margaroyl-2-oleoyl-3-palmitoylglycerol

PPS: 1,2-Dipalmitoyl-3-stearoylglycerol

POP: 1,3-Dipalmitoyl-2-oleoylglycerol

PLP: 1,3-Dipalmitoyl-2-linoleoylglycerol

PSS: 1-Palmitoyl-2,3-distearoylglycerol

POS: 1-Palmitoyl-2-oleoyl-3-stearoylglycerol

POO: 1-Palmitoyl-2,3-dioleoylglycerol

PLS: 1-Palmitoyl-2-linoleoyl-3-stearoylglycerol

SSS: Tristearin

SOS: 1,3-distearoyl-2-oleoylglycerol

SOO: 1-stearoyl-2,3-dioleoylglycerol

SLS: 1,3-distearoyl-2- linoleoyl glycerol

OOO: Triolein

SLO: 1- stearoyl -2-linoleoyl-3-oleoylglycerol

SOA: 1-stearoyl-2-oleoyl-arachidoylglycerol

AOO: 1-arachidoyl-2,3- dioleoylglycerol

Hình A.1 – Biểu đồ triacylglycerol của bơ cacao CRM

Bảng A.2 – Dữ liệu về độ chụm đối với các mẫu bơ cacao tinh khiết

	CB tinh khiết ^a			CB tinh khiết ^b			CB tinh khiết ^c		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Số lượng phòng thử nghiệm	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Số lượng các phòng thử nghiệm ngoại lệ	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Số lượng các kết quả được chấp nhận	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Giá trị trung bình (g/100 g)	20,396	47,731	31,873	19,491	47,421	33,089	18,991	47,210	33,799
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g	0,057	0,056	0,093	0,069	0,095	0,097	0,092	0,084	0,154
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	0,28	0,12	0,29	0,36	0,20	0,29	0,49	0,18	0,45
Giới hạn lặp lại, r [$=2,83 \times s_r$], g/100 g	0,160	0,157	0,261	0,194	0,265	0,271	0,258	0,236	0,430
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g	0,142	0,108	0,169	0,081	0,148	0,166	0,120	0,090	0,168
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	0,70	0,23	0,53	0,42	0,31	0,50	0,63	0,19	0,50
Giới hạn tái lập, R [$=2,83 \times s_R$], g/100 g	0,397	0,302	0,473	0,227	0,413	0,464	0,337	0,253	0,471
^a xuất xứ: Grenada ^b xuất xứ: Ghana ^c : xuất xứ: bờ biển Ngà (Ivory coast)									

Bảng A.3 – Dữ liệu về độ chụm đối với các mẫu sôcôla thực

	Sôcôla [có bổ sung CBE]			Sôcôla [không bổ sung CBE]		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Số lượng các phòng thử nghiệm	13	13	13	13	13	13
Số lượng các phòng thử nghiệm ngoại lệ	2	2	2	1	1	1
Số lượng các kết quả được chấp nhận	11	11	11	12	12	12
Giá trị trung bình (g/100 g)	25,375	43,757	30,868	19,740	47,401	32,859
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g	0,128	0,101	0,180	0,089	0,070	0,074
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	0,50	0,23	0,58	0,45	0,15	0,23
Giới hạn lặp lại, r [$=2,83 \times s_r$], g/100 g	0,358	0,282	0,503	0,250	0,195	0,208
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g	0,265	0,210	0,198	0,120	0,106	0,111
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	1,04	0,48	0,64	0,61	0,22	0,34
Giới hạn tái lập, R [$=2,83 \times s_R$], g/100 g	0,741	0,588	0,553	0,335	0,298	0,310

Bảng A.4 – Dữ liệu về độ chụm đối với bơ cacao có khoảng 2 % hỗn hợp CBE

	2,06 % CBE/CB ^a			1,98 % CBE/CB ^b			2,04 % CBE/CB ^c			2,09 % CBE/CB ^d		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Số lượng các phòng thử nghiệm	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Số lượng các phòng thử nghiệm ngoại lệ,	0	0	0	1	1	1	2	2	2	1	1	1
Số lượng các kết quả được chấp nhận	13	13	13	12	12	12	11	11	11	12	12	12
Giá trị trung bình (g/100 g)	20,611	47,082	32,307	19,938	46,795	33,267	19,698	46,619	33,682	19,859	46,646	33,495
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g	0,184	0,095	0,222	0,050	0,070	0,082	0,093	0,063	0,137	0,029	0,083	0,077
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	0,89	0,20	0,69	0,25	0,15	0,25	0,47	0,14	0,41	0,14	0,18	0,23
Giới hạn lặp lại, r [=2,83 × s_r], g/100 g	0,514	0,267	0,621	0,140	0,196	0,230	0,261	0,177	0,383	0,080	0,233	0,217
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g	0,193	0,132	0,250	0,188	0,091	0,181	0,113	0,142	0,149	0,094	0,118	0,185
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	0,94	0,28	0,77	0,59	0,19	0,54	0,57	0,31	0,44	0,47	0,25	0,55
Giới hạn tái lập, R [=2,83 × s_R], g/100 g	0,540	0,368	0,701	0,331	0,254	0,506	0,317	0,399	0,417	0,262	0,330	0,517
^a CB từ Geranada được trộn với CBE loại PMF/(Shea + Illie') [35/65]												
^b CB từ Ghana được trộn với CBE loại PMF/Shea [50/50]												
^c CB từ Bờ Biển Ngà được trộn với CBE loại PMF/Sai/Mango [50/25/25]												
^d CB từ Bờ Biển Ngà được trộn với CBE loại PMF/Shea/Illipe' [50/25/25]												

Bảng A.5 – Dữ liệu về độ chụm đối với bơ cacao có khoảng 4 % hỗn hợp CBE

	4,0 % CBE/CB ^a			3,96 % CBE/CB ^b			4,04 % CBE/CB ^c			4,00 % CBE/CB ^d		
	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS	POP	POS	SOS
Số lượng các phòng thử nghiệm	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Số lượng các phòng thử nghiệm ngoại lệ,	0	0	0	1	1	1	2	2	2	1	1	1
Số lượng các kết quả được chấp nhận	13	13	13	12	12	12	11	11	11	12	12	12
Giá trị trung bình (g/100 g)	20,747	46,341	32,912	20,348	46,176	33,475	20,421	46,075	33,504	20,765	46,100	33,135
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r , g/100 g	0,141	0,077	0,171	0,075	0,053	0,075	0,115	0,105	0,134	0,109	0,079	0,126
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	0,68	0,17	0,52	0,37	0,11	0,22	0,56	0,23	0,40	0,53	0,17	0,38
Giới hạn lặp lại, r [$\approx 2,83 \times s_r$], g/100 g	0,395	0,215	0,478	0,209	0,148	0,209	0,322	0,293	0,377	0,306	0,221	0,354
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R , g/100 g	0,156	0,182	0,279	0,214	0,066	0,213	0,157	0,148	0,196	0,164	0,125	0,226
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	0,75	0,39	0,85	1,05	0,14	0,64	0,77	0,32	0,59	0,79	0,27	0,68
Giới hạn tái lập, R [$\approx 2,83 \times s_R$], g/100 g	0,437	0,510	0,782	0,601	0,183	0,596	0,441	0,414	0,549	0,459	0,351	0,633
^a CB từ Geranada được trộn với CBE loại PMF/(Shea + Illie') [35/65]												
^b CB từ Ghana được trộn với CBE loại PMF/Shea [50/50]												
^c CB từ Bờ Biển Ngà được trộn với CBE loại PMF/Sai/Mango [50/25/25]												
^d CB từ Bờ Biển Ngà được trộn với CBE loại PMF/Shea/Illipe' [50/25/25]												

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] Directive 2000/36/EC of the European Parliament and of the council of 23 June 2000 relating to cocoa and chocolate products intended for human consumption. Official Journal, L 197, 03/80/2003,19-25
 - [2] KOEBER, R., BUCHGRABER, M., ULBERTH, F., BACAROLO, R., BERNREUTHER, A., SCHIMMEL, H., ANKLAM, E. and PAUWELS, J. *The certification of the content of five triglycerides in cocoa butter*, 2003, EUR 20781 EN, ISBN 92-894-6036-9
 - [3] BUCHGRABER, M., SENALDI, Ch., ULBERTH, F. and ANKLAM, E. Detection and quantification of cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate by gas liquid chromatography of triacylglycerols. *J.AOAC Internat.*, 87, 2004, pp. 1153-1163
 - [4] BUCHGRABER, M. ULBERTH, G. and ANKALAM, E. Method validation fo detection and quantification of cocoa butter equivalents in cocoa butter ans plain chocolate. *J. AOAC Internat.*, 87, 2004, pp. 1164-1172
 - [5] BUCHGRABER, M. and ANKALAM, E. *Validation for detection of cocoa butter equivalents in cocoa butter and plain chocolate*, 2003, EUR 20685 EN, ISBN 92-894-5510-1
 - [6] TCVN 2625 (ISO 5555), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu*
-