

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 9673:2013**

**ISO 15304:2002**

Xuất bản lần 1

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT – XÁC ĐỊNH  
HÀM LƯỢNG CÁC ĐỒNG PHÂN AXIT BÉO DẠNG TRANS  
CỦA DẦU MỠ THỰC VẬT – PHƯƠNG PHÁP SẮC KÍ KHÍ**

*Animal and vegetable fats and oils – Determination of the content of trans fatty acid  
isomers of vegetable fats and oils – Gas chromatographic method*

**HÀ NỘI – 2013**

**Lời nói đầu**

TCVN 9673:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 15304:2002 và  
Đính chính kỹ thuật 1:2003;

TCVN 9673:2013 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 hàm lượng các đồng phân axit béo dạng *trans* của dầu mỡ thực vật – Phương pháp sắc kí khí

*Animal and vegetable fats and oils – Determination of the content of trans fatty acid isomers of vegetable fats and oils – Gas chromatographic method*

#### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp sắc kí khí sử dụng các cột mao quản để xác định hàm lượng đồng phân axit béo dạng *trans* của dầu mỡ thực vật.

Phương pháp này được thiết kế đặc biệt để đánh giá mức đồng phân *trans* tạo thành trong quá trình tinh luyện (nhiệt độ cao) hoặc trong quá trình hydro hoá dầu mỡ thực vật, sử dụng quy trình sắc kí khí (GC) mao quản đơn.

Phương pháp này có thể được sử dụng để xác định tất cả các axit béo khác (ví dụ: để thu được đầy đủ thành phần axit béo và tổng lượng axit béo bão hòa, các axit béo chưa bão hòa đơn và các axit béo chưa bão hòa đa) từ cùng một mẫu và cùng một phép phân tích.

CHÚ THÍCH 1 Hàm lượng các đồng phân *trans* thu được bằng phương pháp này có thể không tương thích với hàm lượng đồng phân *trans* thu được khi sử dụng các phương pháp khác.

CHÚ THÍCH 2 Trong suốt quá trình tinh luyện (nhiệt độ cao) (khử axit và khử mùi), chỉ hình thành các đồng phân hình học của các axit béo chưa bão hòa đơn và các axit béo chưa bão hòa đa; nghĩa là liên kết đôi còn lại ở cùng một vị trí tự nhiên. Trong quá trình hydro hóa, hình thành cả đồng phân vị trí và đồng phân hình học.

CHÚ THÍCH 3 Đối với một vài trường hợp cụ thể, có thể xảy ra việc hình thành các đồng phân *cis*- và *trans* trong quá trình hydro hóa, cũng được rửa giải. Điều này có thể ảnh hưởng đến độ chính xác của kết quả thu được. Mức của các đồng phân này thường được bỏ qua đối với dầu và mỡ được hydro hóa từng phần.

#### 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*.

## TCVN 9673:2013

ISO 5509<sup>1)</sup>, *Animal and vegetable fats and oils – Preparation of methyl esters of fatty acids (Dầu mỡ động vật và thực vật – Chuẩn bị các methyl este của axit béo)*.

### 3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

#### 3.1

**Hàm lượng các đồng phân axit béo dạng *trans* của dầu và mỡ tinh luyện (nhiệt độ cao)**  
[(content of *trans* fatty acid isomers of (high temperature) refined oils and fats)]

Tổng của các methyl este của axit béo C18:1 *trans*, C18:2 *trans*, C18:3 *trans*, được biểu thị bằng tổng phần khối lượng của các methyl este của axit béo.

#### 3.2

**Hàm lượng các đồng phân axit béo dạng *trans* của dầu và mỡ đã hydro hóa từng phần**  
(content of *trans* fatty acid isomers of partially hydrogenated oils and fats)

Tổng của các methyl este của axit béo có liên kết đôi *trans*, được biểu thị bằng phần khối lượng của tất cả các methyl este của axit béo.

CHÚ THÍCH Hàm lượng của các đồng phân axit béo dạng *trans* được biểu thị bằng phần trăm.

### 4 Nguyên tắc

Các axit béo đã methyl hóa của mẫu được tách trên cột sắc kí khí mao quản với pha tĩnh phân cực cao, với chiều dài chuỗi, mức độ bão hòa (chưa bão hòa) và dạng hình học và vị trí liên kết đôi của chúng.

### 5 Thuốc thử và vật liệu thử

Chỉ sử dụng thuốc thử thuộc loại tinh khiết phân tích, trừ khi có các quy định khác.

**5.1 Khí mang**, tốt nhất là dùng heli hoặc hydro, hoặc nitơ có chất lượng dùng cho sắc kí khí, đã được làm khô và có bộ lọc thích hợp để loại ôxy.

**CẢNH BÁO** – Khí hydro chỉ được sử dụng với các cột mao quản, có thể tăng gấp đôi tốc độ phân tích (so với heli) nhưng rất nguy hại. Cần có sẵn thiết bị an toàn và dụng cụ thích hợp đi kèm với thiết bị.

**5.2 Vật liệu chuẩn đã được chứng nhận (CRM), BCR 162 (hỗn hợp đậu tương/ngô).**<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> ISO 5509:2000 đã được thay thế bởi ISO 12966-2:2011, tiêu chuẩn này đã được biên soạn thành TCVN 9675-2:2013 (ISO 12966-2:2011) *Dầu mỡ động vật và thực vật – Sắc kí khí các methyl este của axit béo – Phần 2: Chuẩn bị methyl este của axit béo*.

<sup>1)</sup> Ủy ban Châu Âu, Trung tâm nghiên cứu, Viện Đo lường và vật liệu chuẩn (IRMM), Geel, Bỉ.

CHÚ THÍCH: Ngoài việc sử dụng CRM từ EC, có thể sử dụng các vật liệu chuẩn khác từ các nhà cung cấp đáng tin cậy như Supelco, Larodan, Nuchek và Sigma. Các vật liệu chuẩn khác có thể cần thiết đối với các loại dầu đã hydro hóa khác (ví dụ: dầu có chứa lauric, dầu không chứa lauric và dầu cọ).

## 6 Thiết bị, dụng cụ

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

**6.1 Máy sắc kí khí**, được trang bị hệ thống bơm mao quản (tốt nhất là kiểu chia dòng, hoạt động theo tỷ lệ chia dòng khoảng 1:100) và detector ion hóa ngọn lửa (FID).

**6.2 Cột mao quản**, với pha tĩnh phân cực cao (ví dụ: CP<sup>TM</sup>-Sil 88<sup>2)</sup>, SP-2340<sup>3)</sup>, BPX-70<sup>4)</sup> hoặc các pha cyanopropyl phân cực cao tương tự có thể cho độ phân giải tương tự các đồng phân hình học khác nhau, như SP-2380 và SP-2560).

CHÚ THÍCH: Để phân tách tốt hơn, nên sử dụng cột CP<sup>TM</sup>-Sil 88 hoặc SP-2560 100 m và hydro làm khí mang.

Các ví dụ về kích thước:

- CP<sup>TM</sup>-Sil 88, (50 đến 100) m x 0,25 mm đường kính trong, độ dày của màng 0,20 µm;
- SP-2360, (50 đến 100) m x 0,25 mm đường kính trong, độ dày của màng 0,20 µm;
- SP-2340, 60 m x 0,25 mm đường kính trong, độ dày của màng 0,20 µm;
- BPX-70, 50 m x 0,22 mm đường kính trong, độ dày của màng 0,25 µm;

Các điều kiện tối ưu được người sử dụng xác định theo các hướng dẫn trong 10.3 (xem thêm Phụ lục A).

## 7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 (ISO 5555)<sup>[1]</sup>.

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và không bị hư hỏng hoặc thay đổi trong suốt quá trình bảo quản và vận chuyển.

## 8 Chuẩn bị mẫu thử

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

Trộn kỹ mẫu trước khi lấy phần mẫu thử. Làm tan chảy mẫu dạng rắn để trộn được đều.

<sup>2)</sup> Sản phẩm bán sẵn từ Chrompack, Middelburg, Hà Lan

<sup>3)</sup> Sản phẩm bán sẵn từ Supelco, Bellefonte, PA, USA.

<sup>4)</sup> Sản phẩm bán sẵn từ SGE Inc., Austin, Texas, USA.

Các loại cột này là ví dụ về các sản phẩm thích hợp có bán sẵn trên thị trường. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng các sản phẩm đó.

## 9 Chuẩn bị metyl este

Chuẩn bị các metyl este từ triglycerid của mẫu theo ISO 5509.

Có thể sử dụng các phương pháp quy định trong AOCS Ce 2-66 [2] hoặc IUPAC 2.301 [3].

Để xác định các đồng phân *trans*, ví dụ trong dầu oliu nguyên chất thì nên dùng quy trình este hóa nhóm *trans* thông thường, quy định trong ISO 5509 để tránh làm nóng mẫu.

## 10 Cách tiến hành

### 10.1 Yêu cầu chung

Cùng với việc phân tích mẫu thử (hoặc dãy mẫu thử), thì phân tích một mẫu trắng (*n*-heptan) và mẫu chuẩn CRM (5.2).

### 10.2 Các điều kiện GC

10.2.1 Cài đặt máy sắc kí khí với một trong các tổ hợp nhiệt độ và cột nêu trong Bảng 1.

Đo vận tốc chuyển động tuyến tính của khí mang trung bình nêu trong Bảng 1, với tỷ lệ chia dòng khoảng 1:100.

Xem Phụ lục B về sắc đồ điển hình thu được với các điều kiện nêu trong Bảng 1.

**Bảng 1 – Các điều kiện GC khuyến cáo để nhận biết và định lượng các đồng phân *trans* trong các mẫu dầu thực vật tinh luyện và đã hydro hóa**

Thông số	Các điều kiện tối ưu được đưa ra		
Pha tĩnh	SP-2340	CP™-Sil 88	BPX-70
Điều kiện nhiệt độ, °C	Đẳng nhiệt 192	Đẳng nhiệt 175	Đẳng nhiệt 198
Áp suất đầu cột, kPa	125	130	155
Vận tốc tuyến tính của khí mang (heli), cm/s	15	19	17
Thông số	Các điều kiện tối ưu được đưa ra đối với cột 100 m		
Pha tĩnh	SP-2560	CP™-Sil 88	CP™-Sil 88
Điều kiện nhiệt độ, °C	(120 đến 240) °C tốc độ tăng 4 °C/min	Đẳng nhiệt 150	Đẳng nhiệt 175
Áp suất đầu cột, kPa	220	170	160
Vận tốc tuyến tính của khí mang (hydro), cm/s	30	30	30

**10.2.2** Nhiệt độ của buồng bơm và detector phải là 250 °C.

### 10.3 Kiểm tra hiệu năng

Bơm từ 0,5 µl đến 1,0 µl methyl este (nồng độ khoảng 7 mg/ml trong *n*-heptan) của mẫu thử vào máy sắc kí khí. So sánh kết quả của mẫu loại tương tự với sắc đồ điển hình nêu trong Phụ lục B.

Có thể cần thay đổi nhỏ về nhiệt độ lò nếu phần tách thu được không giống với sắc đồ điển hình. Tăng hoặc giảm nhiệt độ lò theo từng bước 1 °C cho đến khi hiệu quả tách tốt. Những hiệu chỉnh nhỏ này có thể cần để khắc phục sự khác nhau giữa các cột và kiểm soát nhiệt độ thiết bị, và thường nằm trong dải (cộng hoặc trừ) một vài độ so với mức tối đa từ giá trị đã cho.

Nếu nhiệt độ lò tăng (xem [4]) thì pic C20:1 *cis* sẽ được rửa giải sớm hơn, liên quan đến axit linolenic C18:3 9*cis*, 12*cis*, 15 *cis* (ccc).

**CHÚ THÍCH 1** Các đặc tính của pha tĩnh BPX-70 có phần khác nhau, dẫn đến rửa giải pic C20:1 *cis* sau pic C18:3 9*cis*, 12*cis*, 15*cis*, khi sử dụng các điều kiện này (so sánh với Phụ lục B).

Nếu hệ thống GC được cài đặt đúng thì sau khi tách phải nhận biết được một lượng nhỏ đồng phân C18:1 11*cis* cạnh pic C18:1 9*cis* trong dầu tinh luyện (nhiệt độ cao), ví dụ: dầu đậu tương. Hai đồng phân C18:1 *cis* cần được tách rõ (xem Phụ lục B).

**CHÚ THÍCH 2** Dầu marine đã hydro hóa có thể làm tăng dải các đồng phân *trans* rộng hơn, làm cho việc nhận biết và định lượng khó hơn.

Đồng phân tự nhiên C20:1 *cis* cần ở chính giữa pic đồng phân C18:3 *trans* (*tcc*) rửa giải cuối cùng và pic C18:3 *ccc* (axit linolenic) trong dầu tinh luyện (nhiệt độ cao).

Nếu việc tách phù hợp với phân tích kiểu này thì trong dầu tinh luyện (nhiệt độ cao) sẽ có một pic nhỏ của đồng phân C18:1 *trans*, hai đồng phân gần bằng về kích cỡ của C18:2 *trans* và bốn (đôi khi là năm) đồng phân C18:3 *trans*.

Đối với dầu và mỡ đã hydro hóa từng phần thì việc tách các đồng phân C18:1 13*trans* và C18:1 9*cis* có thể thấy trên sắc đồ. Điều này cần thiết cho việc tách chính xác các đồng phân *cis* với *trans* (xem Phụ lục B).

Đồng phân 18:1 13*trans* luôn rửa giải cùng với đồng phân 18:1 14*trans*. Do đó, pic của hai đồng phân này được nhận biết như là 18:1 (13+14)*trans*.

### 10.4 Nhận biết pic

Đối với dầu và chất béo tinh luyện (nhiệt độ cao) thì có ít đồng phân *trans*, vì chỉ có các đồng phân hình học với liên kết đôi ở cùng vị trí tự nhiên được hình thành. Các đồng phân đặc thù này là kiểu C18 của các axit béo: C18:1 9*trans*, C18:2 9*c*12*t* và C18:2 9*t*12*c* và với các đồng phân C18:3 *tct*, *cct*, *ctc*, và *tcc*

## TCVN 9673:2013

9, 12, 15 (trong một số mẫu các đồng phân C18:2 9t12t và C18:3 ttc cũng được tìm thấy với các lượng rất nhỏ).

Đối với dầu và mỡ đã hydro hóa một phần thì các đồng phân chứa liên kết đôi *trans* được nhận biết sử dụng khái niệm chiều dài mạch tương đương (ECL) (xem Tài liệu tham khảo [5,6]). Để nhận biết pic chính xác bằng hệ thống này thì các giá trị ECL phải được xác định sau khi hiệu chỉnh thích hợp với các chuẩn đồng phân axit béo *cis* và *trans* có sẵn<sup>5)</sup>, (xem Phụ lục C).

Mẫu đầu tiên trong mẻ phân tích luôn là một mẫu trắng (*n*-heptan). Mẫu trắng không được có pic nào. Cứ sau mười mẫu thì lặp lại phép thử trắng.

Đối với một mẻ phân tích (nghĩa là metyl hóa xảy ra trong một mẻ), cần phân tích ít nhất một mẫu chuẩn (5.2) để kiểm tra tính năng metyl hóa và phân tách GC. Các axit béo đã metyl hóa của vật liệu chuẩn được bơm sau mỗi dãy mười mẫu thử.

## 11 Tính kết quả

### 11.1 Yêu cầu chung

Phần khối lượng tương đối của từng thành phần được tính bằng cách xác định diện tích hiệu chỉnh của pic tương ứng liên quan đến tổng của các diện tích hiệu chỉnh của tất cả các pic. Việc hiệu chỉnh cần để bù cho với phản ứng FID đối với mỗi thành phần.

Sử dụng vật liệu chuẩn BCR (xem 5.2) để xác định các hệ số hiệu chỉnh riêng rẽ.

### 11.2 Tính hệ số đáp ứng FID

Tính hệ số đáp ứng FID đối với từng thành phần bằng công thức sau:

$$F_x = \frac{M_x}{(n_x - 1)A_c}$$

Trong đó:

$F_x$  là hệ số đáp ứng FID của thành phần  $x$ ;

$M_x$  là khối lượng phân tử của thành phần  $x$ ;

$n_x$  là số lượng nguyên tử cacbon của thành phần axit béo đã metyl hóa  $x$ ;

$A_c$  là khối lượng nguyên tử cacbon ( $A_c = 12,01$ ).

Trong trường hợp này, việc tính toán đưa ra hệ số đáp ứng lý thuyết.

<sup>5)</sup> Các chuẩn đồng phân axit béo có sẵn từ các nhà cung cấp hóa chất (ví dụ: Nu-Check Prep Inc., US; Sigma, US; Larodan, Thụy Điển).



### 11.3 Tính hệ số hiệu chỉnh FID

Tính hệ số hiệu chỉnh FID đối với mỗi thành phần bằng công thức sau:

$$f_x = \frac{F_x}{F_r}$$

Trong đó:

$f_x$  là hệ số hiệu chỉnh đối với thành phần  $x$ ;

$F_x$  là hệ số đáp ứng FID đối với thành phần  $x$ ;

$F_r$  là hệ số đáp ứng FID đối với C16:0 ( $F_r = 1,407$ ).

Hệ số đáp ứng FID đối với C16:0 ( $F_r = 1,407$ ) được coi là chuẩn ( $f_x = 1,00$ ). Tất cả hệ số đáp ứng FID đã hiệu chỉnh khác sử dụng trong tính toán đều tính theo giá trị này. Ví dụ, hệ số đáp ứng hiệu chỉnh đối với C10:0 là 1,10. Xem Phụ lục D về danh mục các hệ số FID.

### 11.4 Tính phân khối lượng tương đối

Tính phân khối lượng tương đối của mỗi thành phần bằng công thức sau:

$$w_x = \frac{A_x \times f_x \times 100\%}{A_t}$$

Trong đó:

$w_x$  là phân khối lượng tương đối của thành phần  $x$ , tính bằng phần trăm diện tích pic;

$A_x$  là diện tích của pic tương ứng với thành phần  $x$ , tính bằng đơn vị diện tích;

$A_t$  là tổng diện tích hiệu chỉnh của tất cả các pic, không bao gồm pic của dung môi, tính bằng đơn vị diện tích;

$f_x$  là hệ số hiệu chỉnh đối với thành phần  $x$ .

### 11.5 Tính hàm lượng của các đồng phân axit béo dạng *trans*

#### 11.5.1 Dầu và mỡ tinh luyện (nhiệt độ cao)

Tính hàm lượng các đồng phân axit béo *trans* của dầu và mỡ tinh luyện (nhiệt độ cao) là tổng của các phân khối lượng tương quan của metyl este axit béo C18:1 *trans*, C18:2 *trans* và C18:3 *trans*, liên quan đến tất cả các metyl este axit béo. Số pic tối đa có thể thu được là: C18:1 *trans* (1 pic), C 18:2 *trans* (2 pic) và C18:3 *trans* (4 pic). Xem Hình A.4 và A.5.

Báo cáo lại kết quả chính xác đến 0,01 % (phân khối lượng).

## TCVN 9673:2013

### 11.5.2 Dầu và mỡ đã hydro hóa từng phần

Tính hàm lượng các đồng phân axit béo dạng *trans* của dầu và mỡ đã hydro hóa từng phần là tổng của các phân khối lượng tương đối của tất cả các metyl este axit béo chứa liên kết đôi *trans*, liên quan đến các metyl este axit béo.

Báo cáo kết quả chính xác đến 0,1 % (khối lượng).

## 12 Độ chụm

### 12.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

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

CHÚ THÍCH Một vài loại dầu đã hydro hóa từng phần có thể có các mức axit béo dạng *trans* nằm ngoài dải thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm.

### 12.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử độc lập, riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong cùng một phòng thử nghiệm, do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không được quá 5 % các trường hợp lớn hơn độ lặp lại  $r$  đưa ra trong Bảng 2.

### 12.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu thử giống hệt nhau, 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 lớn hơn độ tái lập  $R$  đưa ra trong Bảng 2.

**Bảng 2 – Giới hạn lặp lại ( $r$ ) và giới hạn tái lập ( $R$ )**

Mẫu	Hàm lượng trung bình của các đồng phân axit béo dạng <i>trans</i> % (khối lượng)	$r$ % (khối lượng)	$R$ % (khối lượng)
Dầu hạt hướng dương	0,34	0,08	0,21
Dầu đậu tương	0,78	0,13	0,31
Dầu hạt nho	1,09	0,13	0,40

### 13 Báo cáo thử nghiệm

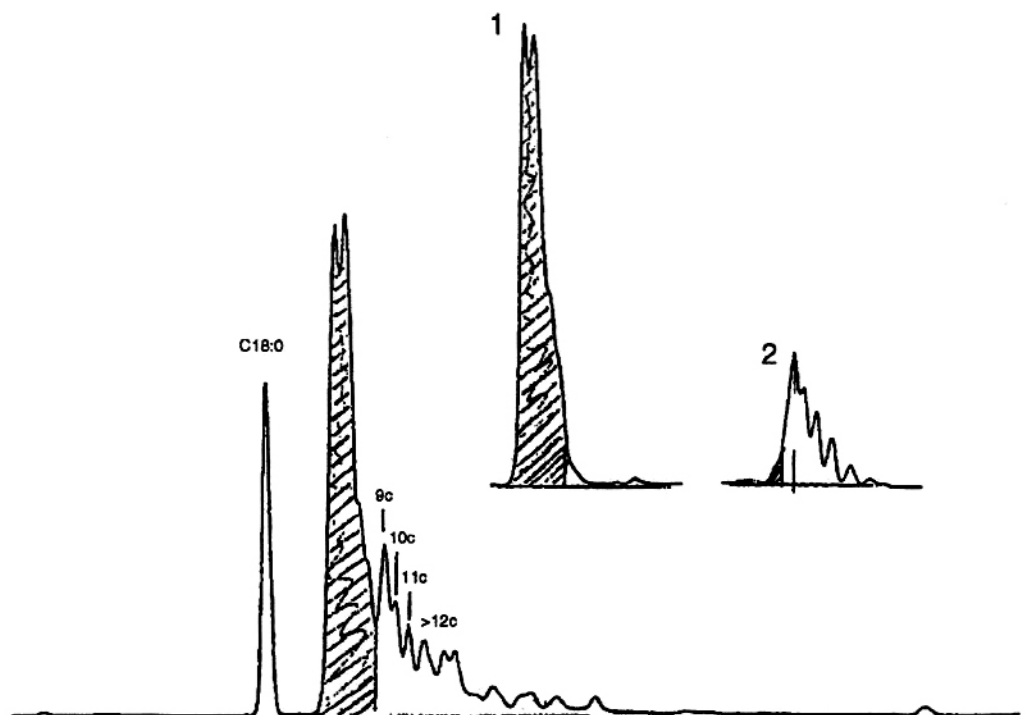
Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- 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;
- mọi điều kiện thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được xem là tùy chọn, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả;
- kết quả thử nghiệm thu được;
- kết quả cuối cùng thu được, nếu kiểm tra độ lặp lại.

**Phụ lục A**  
(Tham khảo)

**Các điều kiện tối ưu**

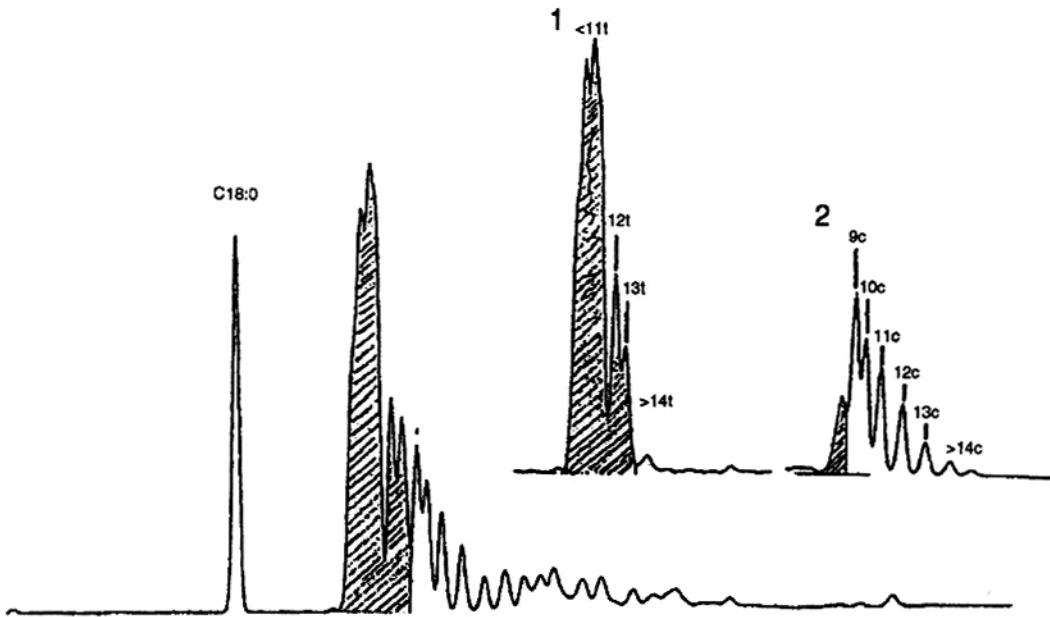
Xem các Hình từ A.1 đến A.3.



**Nhận biết pic**

- 1 monoenoic-*trans*
- 2 monoenoic-*cis*

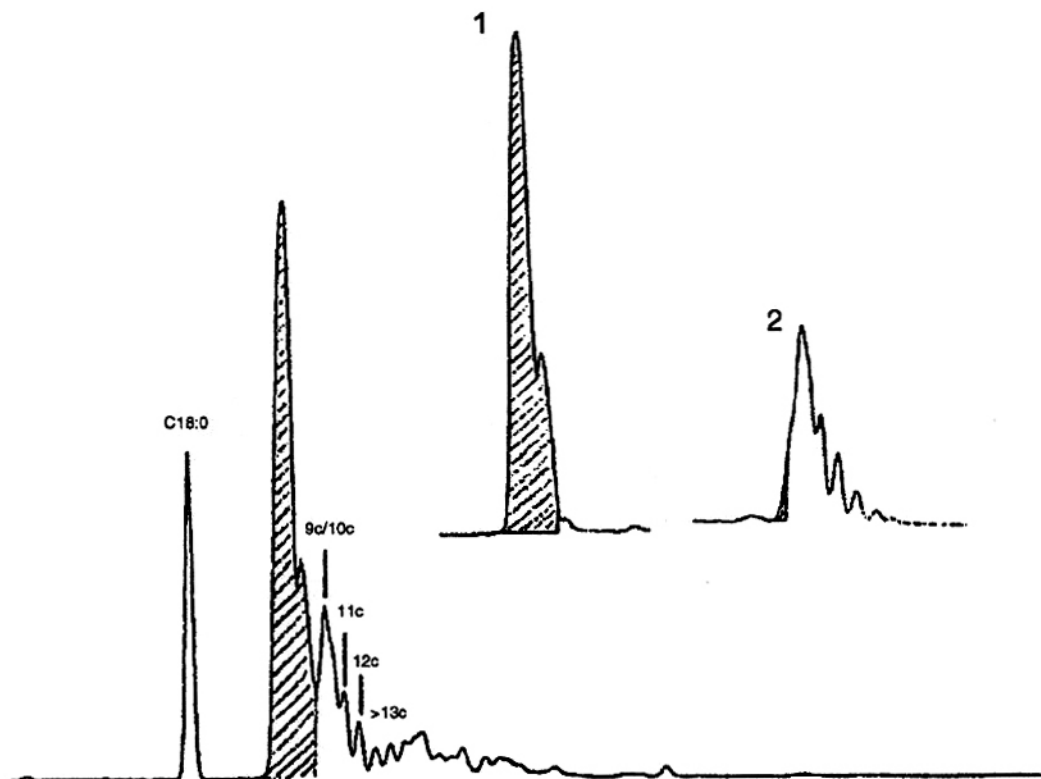
**Hình A.1 – Các điều kiện tối ưu đối với cột BPX-70, ở 198 °C (đẳng nhiệt), mẫu B035**



**Nhận biết pic**

- 1 monoenoic-*trans*
- 3 monoenoic-*cis*

**Hình A.2 – Các điều kiện tối ưu đối với cột CP-Sil 88, ở 175 °C (đẳng nhiệt), mẫu B035**



**Nhận biết pic**

- 1 monoenoic-*trans*
- 4 monoenoic-*cis*

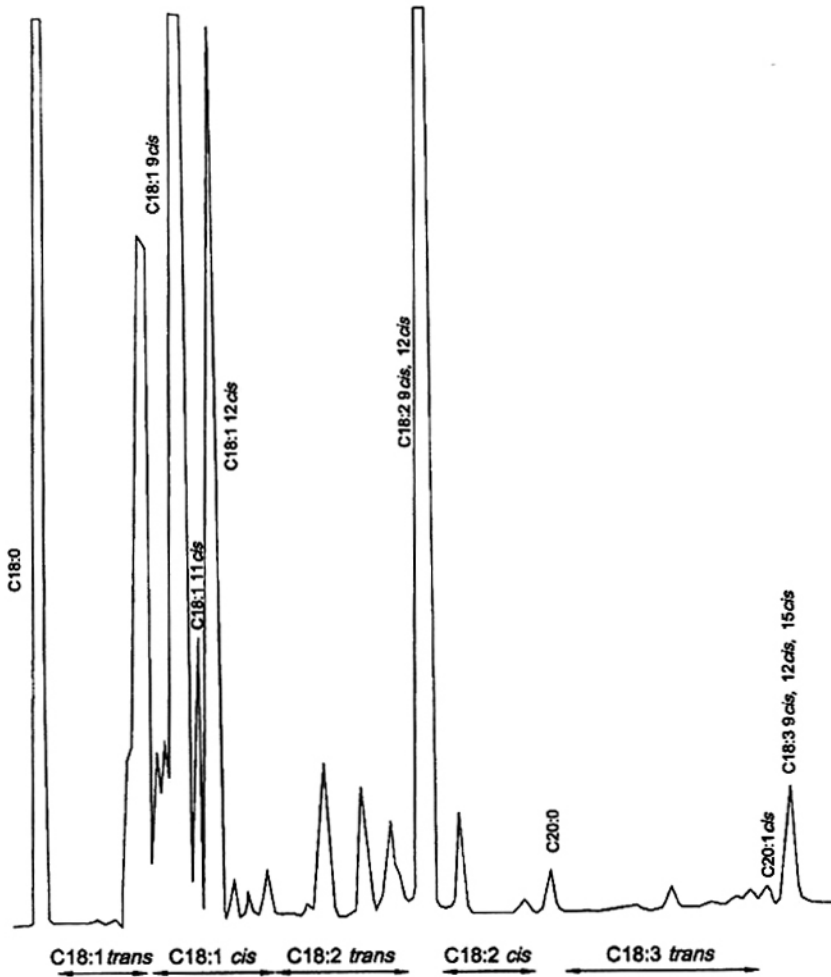
Hình A.3 – Các điều kiện tối ưu đối với cột SP-2340, ở 192 °C (đẳng nhiệt), mẫu B035

## Phụ lục B

(Tham khảo)

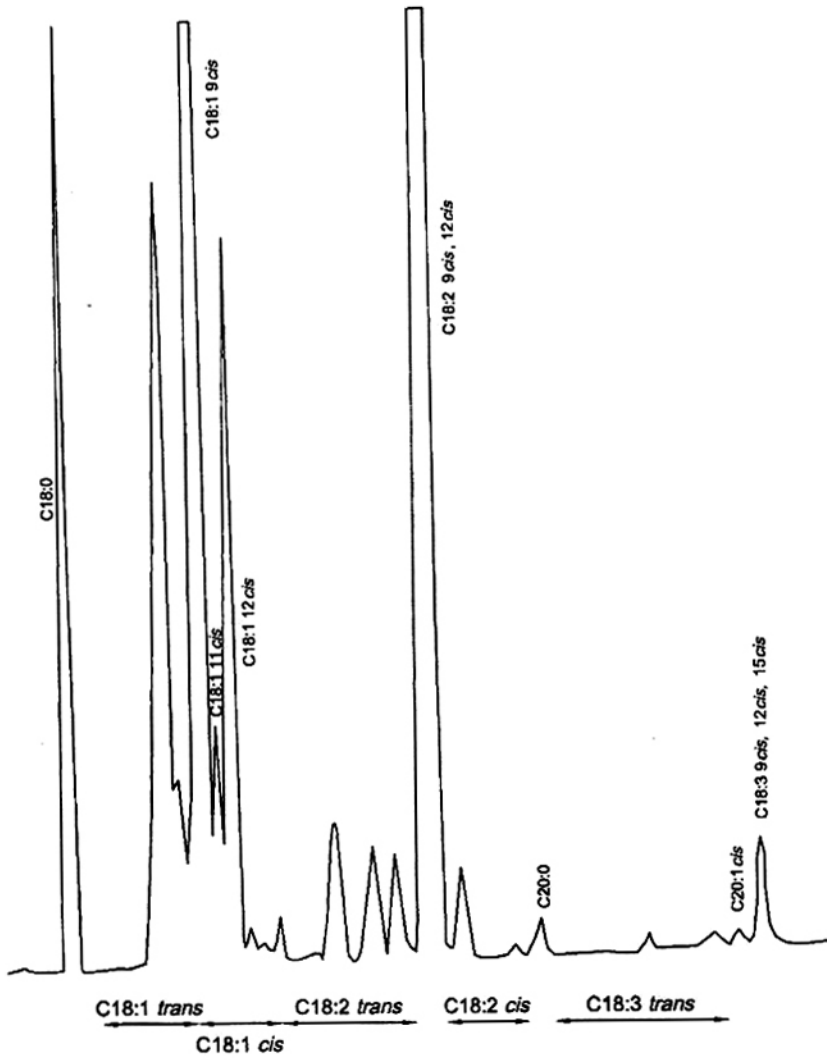
Các ví dụ về các sắc đồ điển hình thu được trong các điều kiện khuyến cáo

Xem các Hình từ B.1 đến B.5.



CHÚ THÍCH: Sử dụng cột 50 m x 0,25 mm x 0,20  $\mu\text{m}$  CP<sup>TM</sup>-Sil 88 (Chrompack) ở 175 °C (đẳng nhiệt). Các diện tích lưu đồ đồng phân axit béo *cis* và *trans* được chỉ ra trên sắc đồ.

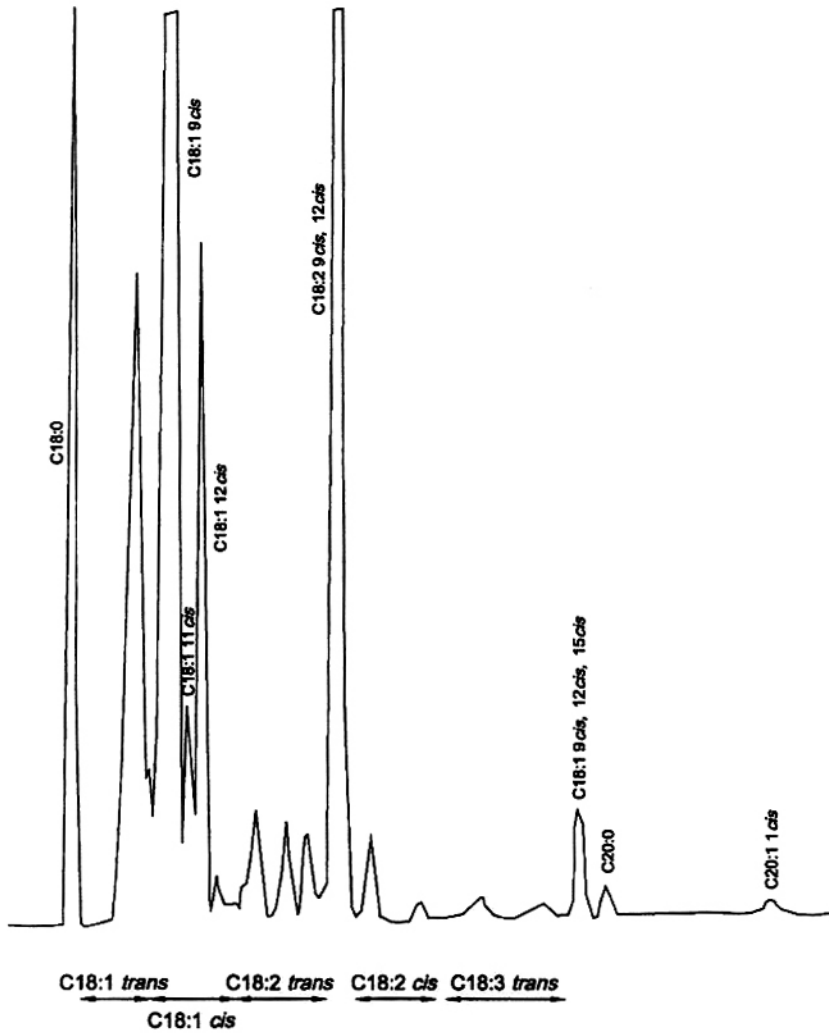
Hình B.1 – Sắc đồ của methyl este từ mẫu dầu đậu tương hydro hóa từng phần



CHÚ THÍCH: Sử dụng cột 60 m x 0,25 mm x 0,20 µm SP-2340 (Supelco) ở 190 °C (đẳng nhiệt). Các diện tích lưu động phân axit béo *cis* và *trans* được chỉ ra trên sắc đồ.

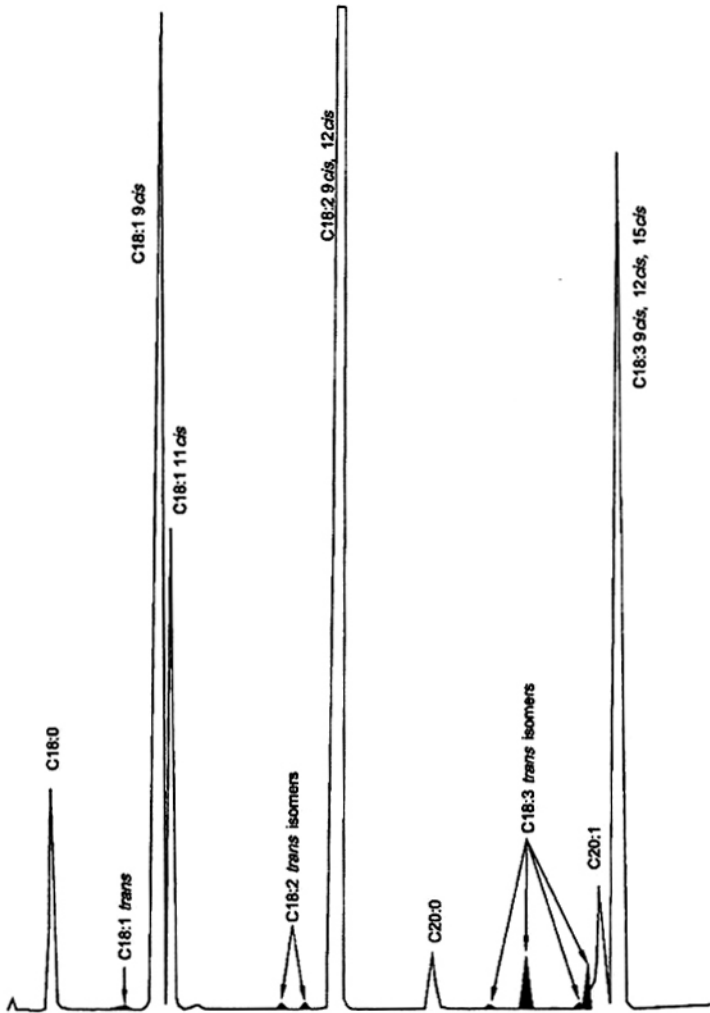
**Hình B.2 – Sắc đồ của methyl este từ mẫu dầu đậu tương hydro hóa từng phần**





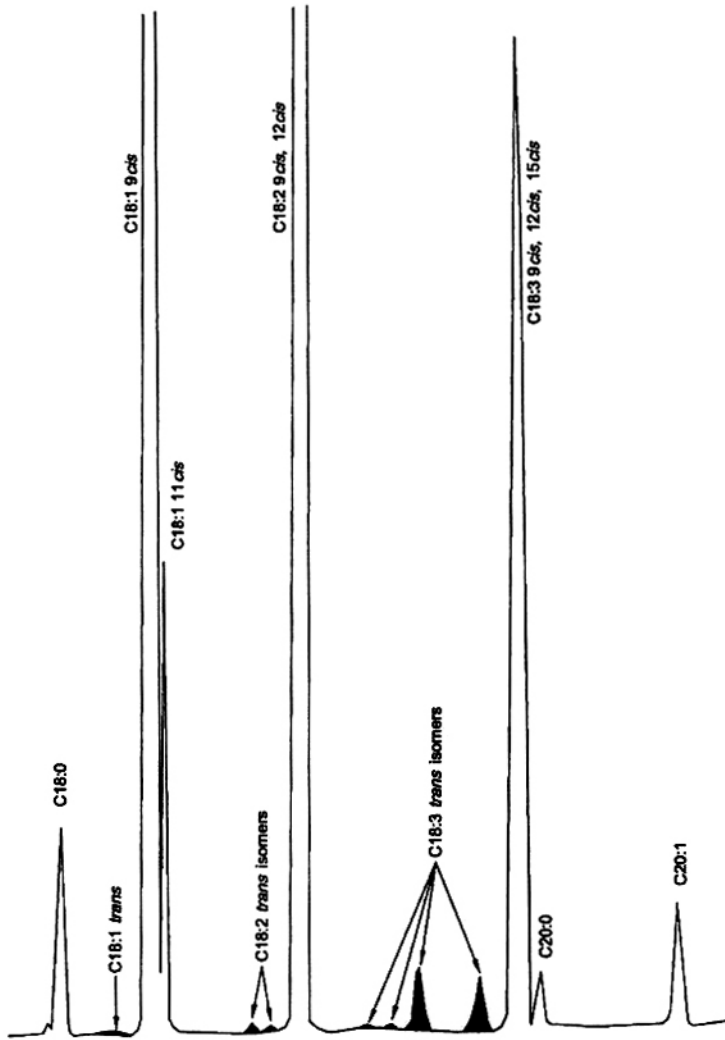
CHÚ THÍCH: Sử dụng cột 50 m x 0,22 mm x 0,25  $\mu\text{m}$  BPX-70 (SGE) ở 198 °C (đẳng nhiệt). Các diện tích lưu động phân axit béo *cis* và *trans* được chỉ ra trên sắc đồ.

Hình B.3 – Sắc đồ của methyl este từ mẫu dầu đậu tương hydro hóa từng phần



CHÚ THÍCH: Sử dụng cột 50 m x 0,25 mm x 0,20  $\mu\text{m}$  CP<sup>TM</sup>-Sil 88 (Chrompack) ở 175 °C (đẳng nhiệt). Các pic đồng phân axit béo *cis* và *trans* được tô đậm màu.

Hình B.4 – Sắc đồ của methyl este từ mẫu dầu hạt nho hydro hóa từng phần



CHÚ THÍCH: Sử dụng cột 50 m x 0,22 mm x 0,25  $\mu$ m BPX-70 (SGE) ở 198 °C (đẳng nhiệt). Các pic đồng phân axit béo *cis* và *trans* được tô đậm màu.

**Hình B.5 – Sắc đồ của metyl este từ mẫu dầu hạt nho tinh luyện ở nhiệt độ cao**

## Phụ lục C

(Tham khảo)

## Các giá trị chiều dài mạch tương đương (ECL)

Đồng phân C18		Pha tĩnh và nhiệt độ		
		SP-2340 192 °C	CP™-Sil 88 175 °C	BPX-70 198 °C
C18:1	6 <i>cis</i>		18,58	
	7 <i>cis</i>		18,58	
	9 <i>cis</i>	18,68	18,66	18,46
	10 <i>cis</i>			
	11 <i>cis</i>	18,76	18,74	18,53
	12 <i>cis</i>		18,80	
	13 <i>cis</i>		18,87	
	15 <i>cis</i>		19,00	
	6 <i>trans</i>		18,41	
	7 <i>trans</i>		18,42	
	9 <i>trans</i>	18,49	18,46	18,28
	10 <i>trans</i>		18,49	
	11 <i>trans</i>		18,52	
	12 <i>trans</i>		18,57	
	13 <i>trans</i>		18,61	
15 <i>trans</i>		18,66		
C18:2	9 <i>c</i> 12 <i>c</i>	19,62	19,63	19,14
	9 <i>c</i> 12 <i>t</i>	19,40	19,40	18,94
	9 <i>t</i> 12 <i>c</i>	19,48	19,49	19,02
	9 <i>t</i> 12 <i>t</i>	19,26	19,20	18,69
	12 <i>c</i> 15 <i>c</i>		19,92	
C18:3	6 <i>c</i> 9 <i>c</i> 12 <i>c</i>		20,28	
	9 <i>t</i> 12 <i>t</i> 15 <i>t</i>		20,04	
	9 <i>t</i> 12 <i>c</i> 15 <i>t</i>	20,23	20,26	19,42
	9 <i>c</i> 12 <i>c</i> 15 <i>t</i>	20,35	20,36	19,61
	9 <i>c</i> 12 <i>t</i> 15 <i>c</i>		20,53	19,51
	9 <i>t</i> 12 <i>c</i> 15 <i>c</i>	20,57	20,56	19,82
	9 <i>c</i> 12 <i>c</i> 15 <i>c</i>	20,68	20,67	19,93
CHÚ THÍCH 1: Các đồng phân axit béo quan trọng nhất được xác định ở Unilever Research Vlaardingen, trên ba pha tĩnh phân cực cao và các điều kiện tối ưu đưa ra.				
CHÚ THÍCH 2: Đối với cơ sở dữ liệu, xem Tài liệu tham khảo [5] và [6].				

## Phụ lục D

(Tham khảo)

## Hệ số đáp ứng FID và hệ số hiệu chỉnh FID

Metyl este (x) của cacbon axit béo Số.	$M_x^a$	$(n_x - 1)^a$	$F_x^a$	$f_x^a$
4:0	102,13	4	2,126	1,51
6:0	130,19	6	1,807	1,28
8:0	158,24	8	1,647	1,17
9:0	172,27	9	1,594	1,13
10:0	186,30	10	1,551	1,10
11:0	200,32	11	1,516	1,08
12:0	214,35	12	1,487	1,06
13:0	228,37	13	1,463	1,04
14:0	242,40	14	1,442	1,02
15:0	256,42	15	1,423	1,01
16:0	270,46	16	1,407	1,00 (đối chứng)
17:0	284,49	17	1,393	0,99
18:0	298,52	18	1,381	0,98
19:0	312,52	19	1,370	0,97
20:0	326,57	20	1,360	0,97
21:0	340,57	21	1,350	0,96
22:0	354,62	22	1,342	0,95
23:0	368,62	23	1,334	0,95
24:0	382,68	24	1,328	0,94

<sup>a</sup>  $M_x$  là khối lượng phân tử tương đối của thành phần x;

$n_x$  là số nguyên tử cacbon của thành phần axit béo đã metyl hóa x;

$F_x$  là hệ số FID đối với thành phần x;

$f_x$  là hệ số hiệu chỉnh đối với thành phần x.

## Phụ lục E

(Tham khảo)

## Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Độ chụm của phương pháp được thiết lập năm 1995 bởi một phép thử liên phòng thử nghiệm được thực hiện theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) [7], và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) [8] và NEN 6303 [9]. Trong phép thử này có 60 phòng thử nghiệm tham gia. Kết quả của 38 phòng thử nghiệm được chấp nhận. Sáu mẫu kiểm tra (mẫu mù) được lặp lại hai lần đối với dầu hạt hướng dương, dầu đậu tương và dầu hạt nho (xem Bảng E.1). Kết quả đã được công bố (xem Tài liệu tham khảo [10]).

CHÚ THÍCH Một vài loại dầu đã hydro hóa từng phần có thể có các mức axit béo dạng *trans* nằm ngoài dải thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm.

Bảng E.1 – Các kết quả phép thử liên phòng thử nghiệm

Thông số	Mẫu		
	Dầu hạt hướng dương	Dầu đậu tương	Dầu hạt nho
Số lượng phòng thử nghiệm giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	38	38	37
Số lượng được quan sát giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	144	147	143
Trung bình hàm lượng các đồng phân axit béo dạng <i>trans</i> , % (khối lượng)	0,34	0,78	1,09
Độ lệch chuẩn lặp lại, ( $s_r$ ), % (khối lượng)	0,029	0,045	0,047
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	8,64	5,85	4,34
Giới hạn lặp lại ( $r$ ) $r = 2,8 s_r$ , % (khối lượng)	0,08	0,13	0,13
Độ lệch chuẩn tái lập, ( $s_R$ ), % (khối lượng)	0,077	0,109	0,143
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	22,64	14,07	13,14
Giới hạn tái lập ( $R$ ) $R = 2,8 s_R$ , % (khối lượng)	0,21	0,31	0,40

Năm 1999, Unilever Research Vlaardingen hợp tác với Viện nghiên cứu Liên phòng thử nghiệm đã tổ chức phép thử liên phòng quốc tế để xác định các đồng phân axit béo dạng *trans* với các loại dầu ăn khác nhau. Trong phép thử nghiệm này có 62 phòng thử nghiệm của 29 nước tham gia; 57 phòng thử nghiệm gửi kết quả. Sử dụng phương pháp thống nhất theo TCVN 6910-2 (ISO 5725-2) để tính giới hạn độ lặp lại và độ tái lập. Sáu mẫu được nghiên cứu lặp lại hai lần trên dầu hạt hướng dương, dầu hạt nho và dầu oliu (xem Bảng E.2 đến E.4).

Bảng E.2 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm trên dầu hạt hướng dương

Thông số	Dầu hạt hướng dương			Tổng các đồng phân <i>trans</i>
	<i>trans</i> C18:1	<i>trans</i> C18:2	<i>trans</i> C18:3	
Số lượng phòng thử nghiệm giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	39	51	30	50
Số lượng được quan sát giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	468	612	360	600
Trung bình hàm lượng các đồng phân axit béo dạng <i>trans</i> , % (bằng khối lượng)	0,029	0,154	0,033	0,205
Độ lệch chuẩn lặp lại, ( $s_r$ ), % (khối lượng)	0,005	0,009	0,007	0,015
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	18,47	5,80	21,65	7,49
Giới hạn lặp lại ( $r$ ) $r = 2,8 s_r$ , % (khối lượng)	0,015	0,025	0,020	0,043
Độ lệch chuẩn tái lập, ( $s_R$ ), % (khối lượng)	0,014	0,030	0,013	0,048
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	46,80	19,25	38,96	23,17
Giới hạn tái lập ( $R$ ) $R = 2,8 s_R$ , % (khối lượng)	0,038	0,083	0,036	0,133

Bảng E.3 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm trên dầu hạt nho

Thông số	Dầu hạt nho			Tổng các đồng phân <i>trans</i>
	<i>trans</i> C18:1	<i>trans</i> C18:2	<i>trans</i> C18:3	
Số lượng phòng thử nghiệm giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	33	48	47	47
Số lượng được quan sát giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	396	576	564	564
Trung bình hàm lượng các đồng phân axit béo dạng <i>trans</i> , % (bằng khối lượng)	0,032	0,074	0,406	0,521
Độ lệch chuẩn lặp lại, ( $s_r$ ), % (khối lượng)	0,005	0,012	0,015	0,027
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	15,63	15,93	3,69	5,21
Giới hạn lặp lại ( $r$ ) $r = 2,8 s_r$ , % (khối lượng)	0,014	0,033	0,042	0,076
Độ lệch chuẩn tái lập, ( $s_R$ ), % (khối lượng)	0,009	0,020	0,058	0,081
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	29,02	27,03	14,16	15,63
Giới hạn tái lập ( $R$ ) $R = 2,8 s_R$ , % (khối lượng)	0,026	0,056	0,161	0,228

Bảng E.4 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm trên dầu oliu

Thông số	Dầu oliu			
	<i>trans</i> C18:1	<i>trans</i> C18:2	<i>trans</i> C18:3	Tổng các đồng phân <i>trans</i>
Số lượng phòng thử nghiệm giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	31	36	22	40
Số lượng được quan sát giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	372	432	264	480
Trung bình hàm lượng các đồng phân axit béo dạng <i>trans</i> , % (khối lượng)	0,023	0,021	0,016	0,055
Độ lệch chuẩn lặp lại, ( $s_r$ ), % (khối lượng)	0,005	0,007	0,005	0,012
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại, %	23,29	34,01	29,02	22,08
Giới hạn lặp lại ( $r$ ) $r = 2,8 s_r$ , % (khối lượng)	0,015	0,020	0,013	0,034
Độ lệch chuẩn tái lập, ( $s_R$ ), % (khối lượng)	0,009	0,011	0,009	0,030
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập, %	40,37	51,02	53,57	54,55
Giới hạn tái lập ( $R$ ) $R = 2,8 s_R$ , % (khối lượng)	0,026	0,030	0,024	0,084



### Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 2625 (ISO 5555), *Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu*
- [2] AOCS Official Method Ce 2-66: *Preparation of methyl esters of long-chain fatty acids*
- [3] IUPAC 2.301: *Preparation of the fatty acid methyl esters*
- [4] DUCHATEAU G.S.M.J.E., van OOSTEN H.J. and VASCONCELLOS M.A. Analysis of *cis*- and *trans*-fatty acid isomers with capillary GLC in hydrogenated and refined vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **73**, 1996, pp. 275-282
- [5] SCHOLFIELD C.R Gas chromatographic equivalent chain lengths of fatty acid methyl esters on a Silar 10C glass capillary column. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 1981, pp. 662-663
- [6] RATNAYAKE W.M.N. and PELLETIER G. Positional and geometrical isomers of linoleic acid in partially hydrogenated oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 1992, pp. 662-663
- [7] TCVN 6910-1 (ISO 5725-1), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung.*
- [8] TCVN 6910-2 (ISO 5725-2), *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.*
- [9] NEN 6303, *Vegetable and animal oils and and fats – Determination of repeatability and reproducibility of methods of analysis by interlaboratory tests*
- [10] BRUGGEN P.C. van, DUCHATEAU G.S.M.J.E., MOOREN, M.M.W. and OOSTEN H.J. van. Precision of low *trans* fatty acid level determination in refined oils: Results of a collaborative capillary gas liquid chromatography study. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **75(4)**, 1998, pp. 483-488
-