

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 9972:2013
ISO 17676:2010**

Xuất bản lần 1

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA –
XÁC ĐỊNH ĐỘ TINH KHIẾT CỦA CHẤT BÉO SỮA
BẰNG PHÂN TÍCH SẮC KÝ KHÍ TRIGLYCERID
(PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

*Milk and milk products – Determination of milk fat purity by gas
chromatographic analysis of triglycerides (Reference method)*

HÀ NỘI – 2013

Lời nói đầu

TCVN 9972:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 17678:2010;

TCVN 9972:2013 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F12 *Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Sữa và sản phẩm sữa –

Xác định độ tinh khiết của chất béo sữa

bằng phân tích sắc ký khí triglycerid (Phương pháp chuẩn)

Milk and milk products – Determination of milk fat purity by gas chromatographic analysis of triglycerides (Reference method)

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp chuẩn dùng sắc ký khí để xác định độ tinh khiết của chất béo sữa (milkfat) bằng phân tích các triglycerid. Phương pháp này có thể phát hiện được cả chất béo thực vật và chất béo động vật như mỡ bò và mỡ lợn. Xác định độ tinh khiết của chất béo sữa dựa vào công thức các triglycerid.

Về cơ bản, phương pháp áp dụng cho sữa hoặc các sản phẩm từ sữa, không áp dụng được cho thức ăn chăn nuôi, thức ăn cho bò giống hoặc bò sữa. Cụ thể, phương pháp này có thể áp dụng cho chất béo chiết được từ các sản phẩm sữa chứa chất béo sữa tinh khiết với thành phần không đổi như bơ, cream, sữa và sữa bột.

Tuy nhiên, trong các điều kiện dưới đây, có thể cho kết quả dương tính giả. Vì vậy, phương pháp này không áp dụng cho chất béo sữa:

- a) từ sữa của giống bò không phải là bò sữa thông thường;
- b) từ những con bò đơn lẻ;
- c) từ những con bò được cho ăn một lượng lớn dầu thực vật tinh khiết như dầu hạt cải;
- d) từ sữa non;
- e) đã qua công nghệ xử lý như loại bỏ cholesterol hoặc loại bỏ một phần cholesterol;
- f) từ sữa gầy hoặc buttermilk;
- g) được tách bằng phương pháp Gerber, Weibull-Berntrop hoặc Schmid-Bondzynski-Ratzlaff hoặc đã được tách bằng chất làm tinh sạch.

TCVN 9972:2013

Bằng các phương pháp chiết quy định trong g), một lượng đáng kể các glycerid hoặc phospholipid có thể đi vào pha chất béo. Do đó, phạm vi áp dụng của tiêu chuẩn này không bao gồm một số sản phẩm nhất định và đặc biệt là phomat, có quá trình chín có thể ảnh hưởng đến thành phần chất béo dẫn đến kết quả dương tính giả.

CHÚ THÍCH 1: Về bản chất, axit butyric (*n*-butanoic) (C4) xuất hiện duy nhất trong chất béo sữa và có thể định lượng được với các lượng chất béo sữa từ thấp đến trung bình có trong chất béo động thực vật. Tuy nhiên, do lượng C4 có sự dao động lớn, nên với sản phẩm chứa từ 3,1 % đến 3,8 % phần khối lượng thì khó cung cấp thông tin về định tính và định lượng chất béo ngoại lai với chất béo sữa tinh khiết chiếm đến 20 % phần khối lượng (xem [1]).

CHÚ THÍCH 2: Trong thực tế, các kết quả định lượng không thể thu được từ hàm lượng sterol của chất béo thực vật, vì chúng phụ thuộc vào các điều kiện sản xuất và chế biến. Ngoài ra, phép định tính chất béo ngoại lai sử dụng sterol là chưa rõ ràng.

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 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.*

TCVN 6508 (ISO 1211), *Sữa – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)*

TCVN 9047 (ISO 7328), *Kem lạnh thực phẩm chứa sữa và kem lạnh hỗn hợp – Xác định hàm lượng chất béo – Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)*

ISO 2450 *Cream – Determination of fat content – Gravimetric method (Reference method) [Cream - Xác định hàm lượng chất béo - Phương pháp khối lượng (Phương pháp chuẩn)].*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

Độ tinh khiết của chất béo sữa (milk fat purity)

Sự không có mặt của các chất béo động thực vật xác định được bằng qui trình quy định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH: Độ tinh khiết được xác định sử dụng các giá trị S tính được từ hàm lượng các triglycerid. Triglycerid được biểu thị theo phần trăm khối lượng.

4 Nguyên tắc

Chất béo chiết được từ sữa hoặc sản phẩm sữa được phân tích bằng sắc ký khí (GC) sử dụng cột nhồi hoặc cột mao quản ngắn để xác định triglycerid (TG) được tách theo số lượng cacbon tổng. Đưa phần trăm khối lượng các phân tử chất béo có kích thước khác nhau (từ C24 đến C54, chỉ sử dụng các nguyên tố cacbon số chẵn) vào công thức tính TG thích hợp để tính giá trị S. Nếu giá trị S vượt quá các giá trị giới hạn đã thiết lập cho chất béo sữa tinh khiết, thì có thể phát hiện được sự có mặt của chất béo ngoại lai.

CHÚ THÍCH 1: Sự thích hợp và tính tương đương của cột nhồi và cột mao quản đã được chứng minh (xem [8] đến [10]).

CHÚ THÍCH 2: Giá trị S là tổng của các phần khối lượng TG cân được.

5 Thuốc thử

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

5.1 Nước, phù hợp với loại 2 quy định trong TCVN 4851 (ISO 3696).

5.2 Khí mang, khí nitơ hoặc khí hydro hoặc khí heli, tất cả các loại khí có độ tinh khiết tối thiểu 99,995 % thể tích.

5.3 Chất béo chuẩn, có độ tinh khiết ít nhất 99 % khối lượng, để chuẩn hóa chất béo sữa chuẩn trong 8.3.3.

5.3.1 Chất chuẩn triglycerid, bão hòa, các sản phẩm thích hợp có bán trên thị trường.

5.3.2 Chất chuẩn cholesterol.

5.4 Metanol (CH₃OH), có hàm lượng nước không lớn hơn 0,05 % khối lượng.

5.5 n-Hexan [CH₃(CH₂)₄CH₃].

5.6 n-Heptan [CH₃(CH₂)₅CH₃].

5.7 Các loại khí khác, hydro có độ tinh khiết ít nhất 99,995 % thể tích, không chứa các tạp chất hữu cơ (C_nH_m < 1 µl/l); khí nhân tạo không chứa các tạp chất hữu cơ (C_nH_m < 1 µl/l)

5.8 Natri sulfat khan (Na₂SO₄).

6 Thiết bị, dụng cụ

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

TCVN 9972:2013

6.1 Máy sắc ký khí nhiệt độ cao, thích hợp để sử dụng ở nhiệt độ ít nhất 400 °C và được trang bị detector ion hóa ngọn lửa (FID). Đối với GC mao quản, thì bắt buộc phải có bộ bơm hóa hơi cài đặt chương trình nhiệt độ hoặc bộ bơm trên cột, bộ bơm chia dòng là không thích hợp.

Septa sử dụng trong bộ bơm phải chịu được nhiệt độ cao và có độ rò rỉ nước thấp hơn. Luôn luôn sử dụng đệm graphit để nối cột với bộ bơm và/hoặc detector.

6.2 Cột sắc ký

6.2.1 Cột nhồi, bằng thủy tinh có đường kính trong 2 mm, dài 500 mm, được nhồi bằng pha tĩnh OV-1 3 % trên Gas ChromQ¹⁾ cỡ hạt từ 125 µm đến 150 µm (100 mesh đến 120 mesh).

Việc chuẩn bị, silan hóa, nhồi và ổn định cột nhồi được nêu trong Phụ lục A.

Cách khác, có thể sử dụng cột mao quản (6.2.2).

6.2.2 Cột mao quản ngắn, ví dụ: dài 5 m, có pha tĩnh không phân cực có thể chịu được nhiệt độ bằng hoặc lớn hơn 400 °C²⁾.

Ổn định cột bằng cách tiến hành 20 phép phân tích dung dịch chất béo sữa (8.2) trong vòng không quá 2 ngày bằng cách sử dụng cách cài đặt trong 8.3.4.2. Sau đó, đảm bảo rằng các hệ số đáp ứng (8.3.3) gần bằng 1 và không lớn hơn 1,2500.

Do có sự trùng pic của C24 và cholesterol, nên có thể chấp nhận hệ số đáp ứng cao hơn đối với C24.

Có thể sử dụng các cột có kích thước khác nhau và pha chịu nhiệt cao không phân cực khác nhau, miễn là phù hợp với tiêu chuẩn này. Tuy nhiên, chiều dài cột có thể bị hạn chế bởi giới hạn bắt buộc trong độ phân giải nêu trong Hình 1. Xem thêm 8.3.4.2.

6.3 Cột Extrelut¹⁾, dung tích từ 1 ml đến 3 ml, được nhồi bằng silica gel, chỉ để chiết chất béo sữa theo 8.1.4.

6.4 Vòng đệm graphit, có thể chịu được nhiệt độ ít nhất 400 °C, để nối cột GC cũng như bộ bơm và/hoặc detector.

6.5 Nồi cách thủy, có thể duy trì ở 50 °C ± 2 °C.

6.6 Tủ sấy, có thể duy trì ở 50 °C ± 2 °C và 100 °C ± 2 °C

¹⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng các sản phẩm này.

²⁾ CP-Ultimeal SimDist (5 m, 0,53 mm, 0,17 µm) là các ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng các sản phẩm này.

6.7 Micropipet.

6.8 Pipet chia vạch, dung tích 5 ml, phù hợp với loại A quy định trong TCVN 7230 (ISO835)^[2].

6.9 Bình cầu đáy tròn, dung tích 50 ml.

6.10 Bình nón, dung tích danh nghĩa 250 ml.

6.11 Phễu.

6.12 Giấy lọc mịn.

6.13 Bộ cô quay.

6.14 Ampun, dung tích danh nghĩa 1 ml, được đậy bằng nắp vận hoặc nắp nhôm có gập mép được lót bằng polytetrafluoroetylen.

6.15 Xyranh, có pittong không chạm được đến đầu kim (GC cột nhỏ).

CHÚ THÍCH: Với xyranh kiểu này có thể thu được các kết quả lặp lại tốt hơn.

6.16 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg, với số đọc 0,1 mg.

7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này, nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707)^[1].

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.

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

8.1.1 Yêu cầu chung

Để chuẩn bị mẫu thử, sử dụng một trong các phương pháp chiết hoặc tách chất béo sữa quy định trong 8.1.2 đến 8.1.4.

8.1.2 Tách chất béo ra khỏi bơ hoặc butteroil

Làm tan chảy từ 50 g đến 100 g mẫu thử trong nồi cách thủy (6.5) hoặc trong tủ sấy (6.6) ở 50 °C.

Cho 0,5 g đến 1,0 g natri sulfat (5.8) vào giấy lọc gấp nếp (6.12). Làm nóng sơ bộ bình nón 250 ml (6.10) và phễu (6.11) cùng với giấy lọc có chứa natri sulfat trong tủ sấy (6.6) ở 50 °C.

TCVN 9972:2013

Khi lượng mẫu bị hạn chế thì sử dụng một lượng mẫu nhỏ hơn và thực hiện theo quy trình tương ứng.

Tuy nhiên, cần lưu ý rằng việc xử lý một lượng mẫu thử nhỏ hơn sẽ có nguy cơ không lấy được mẫu đại diện.

Lọc lớp chất béo của mẫu tan chảy vào bình cầu đã sấy sơ bộ qua giấy lọc, thực hiện trong tủ sấy, không lấy phần nước sữa (serum).

CHÚ THÍCH 1: Bơ có thể thu được từ cream bằng cách đảo trộn mạnh và rửa phần hạt bơ thu được.

CHÚ THÍCH 2: Chất béo sữa thu được theo quy trình này, phần lớn không chứa các phospholipid.

8.1.3 Chiết theo phương pháp khối lượng Rose-Gottlieb

Chiết phần chất béo ra khỏi mẫu thử bằng phương pháp khối lượng quy định trong TCVN 6508 (ISO 1211), hoặc TCVN 9047 (ISO 7328) hoặc ISO 2450.

8.1.4 Chiết ra khỏi sữa sử dụng cột silica gel

Khuấy trộn sữa ở 20 °C. Dùng micropipet (6.7) thêm 0,7 ml mẫu đã chuẩn bị cho vào cột chiết Extrelut dung tích 1 ml đến 3 ml (6.3). Để cho mẫu phân bố đồng đều trên silica gel trong khoảng 5 min.

Để làm biến tính các phức chất protein-lipit, sử dụng pipet chia vạch (6.8), thêm 1,5 ml metanol (5.4) vào cột Extrelut. Sau đó, chiết phần chất béo ra khỏi mẫu bằng 20 ml *n*-Hexan (5.5). Bổ sung từ từ các lượng nhỏ *n*-hexan. Thu lấy phần dung môi chảy qua cột vào bình cầu đáy tròn 50 ml (6.9), trước đó đã được sấy khô đến khối lượng không đổi và cân chính xác đến 1 mg, ghi lại khối lượng thu được chính xác đến 0,1 mg.

Sau khi chiết, để cho cột ráo hẳn. Loại hết dung môi của dịch rửa giải trên bộ cô quay (6.13) có nồi cách thủy được duy trì ở khoảng từ 40 °C đến 50 °C.

Sau khi làm bay hơi hết dung môi, làm khô phần còn lại rồi cân bình cầu đáy tròn chứa mẫu chính xác đến 1 mg, ghi lại kết quả đến 0,1 mg. Lấy khối lượng thu được trừ đi khối lượng của bình rỗng đã biết khối lượng để thu được khối lượng chất béo.

Tùy thuộc vào hàm lượng chất béo của sữa và nồng độ yêu cầu của dung dịch mẫu, kiểm tra xem có cần phải gộp phần thu được của hai hoặc nhiều lần chiết hay không để có được lượng chất béo cần thiết.

8.2 Chuẩn bị dung dịch mẫu chất béo

Đối với sắc ký khí có cột nhồi, chuẩn bị dung dịch 5 % thể tích của chất béo thu được trong 8.1.2, 8.1.3 hoặc 8.1.4 trong *n*-Hexan (5.5) hoặc trong *n*-Heptan (5.6). Tùy thuộc vào kích thước cột, sử dụng nồng

độ 1 % [0,53 mm đường kính trong, lỗ rộng] hoặc nồng độ thấp hơn đối với bơm trên cột bằng cột mao quản.

Sử dụng mẫu chất béo đã chuẩn bị trong 8.1.4, tinh lượng dung môi (5.5 hoặc 5.6) để bổ sung vào mẫu thử trong bình theo khối lượng chất béo thu được.

Hòa tan hoàn toàn chất béo trong dung môi đã sử dụng. Chuyển khoảng 0,5 ml đến 1 ml dung dịch chất béo thu được vào một ampun (6.14).

8.3 Xác định triglycerid bằng sắc ký

8.3.1 Trôi đường nền

Để giảm thiểu sự tăng đường nền, ổn định cột theo quy định trong 6.2.2 (cột mao quản) hoặc trong A.4 (cột nhồi).

CHÚ THÍCH: Vì nhiệt độ cột cao, nên phép phân tích triglycerid đặc biệt nhạy làm tăng đường nền trong dải số lượng cacbon cao.

8.3.2 Kỹ thuật bơm

8.3.2.1 Cột nhồi

Sử dụng kỹ thuật kim nóng để tránh ảnh hưởng đến quá trình tách và để tăng khả năng định lượng các thành phần triglycerid có nhiệt độ sôi cao.

Cho không khí vào đầu kim, rút dung dịch chất béo vào thân xyranh. Lắp kim vào bơm. Đốt nóng kim trước khi bơm khoảng 3 s. Sau đó bơm nhanh lượng chứa trong xyranh.

8.3.2.2 Cột mao quản

Khi sử dụng bơm lên cột lạnh (8.3.4.2), lắp kim vào xyranh và bơm ngay. Chọn thời gian dừng thích hợp của kim sao cho tránh được sự lan rộng pic dung môi.

CHÚ THÍCH: Thời gian dừng thích hợp thường là 3 s.

8.3.3 Hiệu chuẩn

8.3.3.1 Yêu cầu chung

Để hiệu chuẩn các mẫu thử, tiến hành hai đến ba phép phân tích chất béo sữa chuẩn hóa trước khi bắt đầu ngày phân tích. Sử dụng phép phân tích cuối cùng của chất béo sữa chuẩn hóa để xác định các hệ số đáp ứng, f_i , (phần khối lượng chia cho phần diện tích) của các triglycerid và của cholesterol và áp dụng cho các mẫu thử tiếp theo (xem 10.1):

$$f_i = \frac{w_i \sum A_i}{\sum w_i A_i} \quad (1)$$

Trong đó:

w_i là khối lượng của từng triglycerid hoặc cholesterol trong chất béo sữa đã chuẩn hóa, tính bằng phần trăm (%);

A_i là diện tích pic của từng triglycerid hoặc cholesterol trong chất béo sữa đã chuẩn hóa.

Biểu thị các hệ số đáp ứng đến bốn chữ số thập phân.

Tiến hành theo 8.3.3.2 hoặc 8.3.3.3 để thu được chất béo sữa chuẩn với thành phần triglycerid đã biết.

8.3.3.2 Chất béo sữa chuẩn có bán sẵn

Sử dụng chất béo sữa chuẩn có thành phần triglycerid đã được xác nhận³⁾ để xác định hệ số đáp ứng của từng thành phần có trong mẫu thử.

8.3.3.3 Chất béo sữa chuẩn phòng thử nghiệm

Chuẩn bị khoảng 1 g hỗn hợp các chất béo chuẩn (5.3), có chứa ít nhất các triglycerid, C24, C30, C36, C42, C48 và C54 bão hòa, cũng như cholesterol, tốt nhất là cả C50 và C52, bằng cách cân chính xác đến 1 mg và ghi lại khối lượng chính xác đến 0,1 mg để thu được thành phần triglycerid tương đối tương tự chất béo sữa.

Phân tích lặp lại dung dịch hỗn hợp các chất béo chuẩn trong *n*-Hexan (5.5) hoặc trong *n*-Heptan (5.6) theo 8.3.4. Phân tích lặp lại chất béo sữa có thành phần điển hình theo cùng trình tự như trên.

Xác định các hệ số đáp ứng triglycerid từ hỗn hợp các chất béo chuẩn. Tính các hệ số đáp ứng trung gian của các triglycerid không có mặt trong hỗn hợp bằng phép nội suy toán học. Áp dụng các hệ số đáp ứng thu được cho chất béo sữa để có được thành phần chuẩn hóa.

Chất béo sữa chuẩn hóa thu được này nếu được bảo quản trong môi trường nitơ ở nhiệt độ tối đa âm 18 °C thì có thể bền được vài năm.

³⁾ CRM 519 (chất béo sữa dạng khan) là ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn và không ấn định phải sử dụng các sản phẩm này.

8.3.4 Điều kiện sắc ký

8.3.4.1 Cột nhồi

8.3.4.1.1 Sử dụng cột nhồi thường cho kết quả về độ phân giải tương tự như trong Hình 1. Tránh phân tách các triglycerid số chẵn, cho dù không phải thường xuyên quan sát được.

8.3.4.1.2 Chương trình nhiệt độ: cài đặt nhiệt độ ban đầu của lò đến 210 °C. Duy trì ở nhiệt độ đó trong 1 min. Sau đó tăng nhiệt độ đến 350 °C với tốc độ 6 °C/min. Duy trì ở nhiệt độ này (nhiệt độ cuối cùng) trong 5 min.

8.3.4.1.3 Nhiệt độ của detector và bộ bơm: đều cài đặt ở 370 °C.

8.3.4.1.4 Khí mang: sử dụng khí nitơ có tốc độ dòng ổn định ở khoảng 40 ml/min. Chỉnh chỉnh xác dòng khí mang sao cho C54 được rửa giải ở 341 °C.

8.3.4.1.5 Thời gian phân tích là 29,3 min.

8.3.4.1.6 Thể tích bơm: 0,5 µl dung dịch mẫu 5 % thể tích.

8.3.4.1.7 Khi không thực hiện các phép phân tích triglycerid, duy trì nhiệt độ lò ban đầu như trong 8.3.4.1.2, nhiệt độ của detector và bộ bơm như trong 8.3.4.1.3 và tốc độ dòng khí mang như trong 8.3.4.1.4 ở tốc độ không đổi qua đêm và trong suốt tuần phân tích kể cả ngày nghỉ. Điều này đảm bảo tính năng tối ưu của cột.

8.3.4.2 Cột mao quản

8.3.4.2.1 Sử dụng cột mao quản thường cho kết quả về độ phân giải tương tự như trong Hình 1. Tránh phân tách các triglycerid số chẵn, cho dù không phải thường xuyên quan sát được.

8.3.4.2.2 Chương trình nhiệt độ: cài đặt nhiệt độ ban đầu của lò ở 80 °C. Duy trì ở nhiệt độ này trong 0,5 min. Tăng nhiệt với tốc độ 50 °C/min đến 190 °C và sau đó tăng 6 °C/min đến 350 °C. Duy trì ở nhiệt độ này (nhiệt độ cuối cùng) trong 5 min.

8.3.4.2.3 Nhiệt độ của detector: cài đặt ở 370 °C.

8.3.4.2.4 Khí mang: sử dụng khí nitơ có tốc độ dòng ổn định ở khoảng 3 ml/min.

8.3.4.2.5 Thời gian phân tích là 34,4 min.

8.3.4.2.6 Thể tích bơm: 0,5 µl dung dịch mẫu 1 % thể tích.

8.3.4.2.7 Duy trì việc cài đặt này khi không làm việc để đảm bảo tốt nhất tính năng của cột (xem 8.3.4.1.7).

Khi sử dụng bơm trên cột lạnh, cài đặt nhiệt độ bơm ở chế độ "oven track" để thu được kết quả tốt nhất.

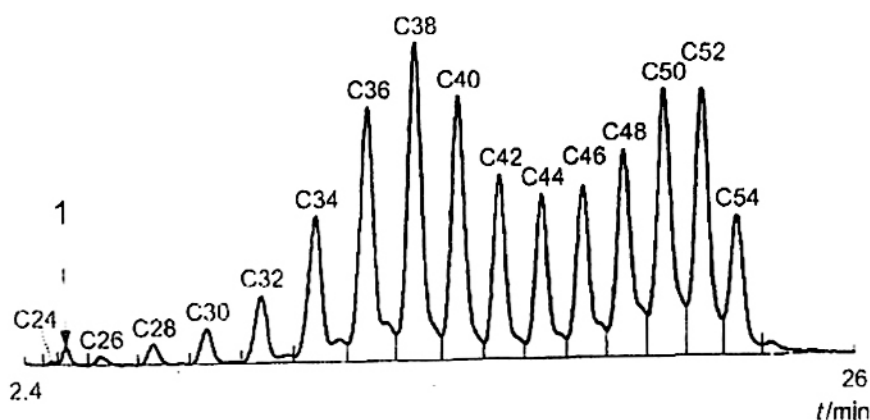
Việc cài đặt nêu trong 8.3.4.2 là thích hợp cho việc sử dụng bơm trên cột vào cột lỗ rộng (đường kính trong 0,53 mm) như quy định trong 6.2.2. Nếu sử dụng đường kính cột hoặc pha khác thì có thể áp dụng các điều kiện khác. Phạm vi áp dụng bao gồm cả sử dụng sắc ký khí siêu nhanh. Trong mọi trường hợp, phải có yêu cầu bắt buộc đối với độ phân giải phù hợp (xem Hình 1).

9 Tích phân, đánh giá và kiểm soát hiệu năng phân tích

Đánh giá các pic sắc ký đồ bằng hệ thống tích phân có thể vẽ đường nền và tích phân lại.

Hình 1 nêu ví dụ về sắc ký đồ đã tích phân, còn Hình 2 nêu ví dụ về sai số ngẫu nhiên trong phần cuối đường nền sau C54 làm ảnh hưởng đến phần trăm tất cả các triglycerid. Tuy nhiên, không bao gồm các pic rữa giải sau C54 từ kết quả của phần đánh giá.

Gộp các triglycerid với acyl-C số lẻ ($2n + 1$) với triglycerid số chẵn ($2n$) đứng trước. Không tính hàm lượng C56. Nhân các phần trăm diện tích pic của các triglycerid còn lại, kể cả cholesterol với các hệ số đáp ứng tương ứng của chất béo sữa chuẩn hóa (lần hiệu chuẩn sau cùng) và chuẩn hóa tất cả đến 100 % theo 10.1.

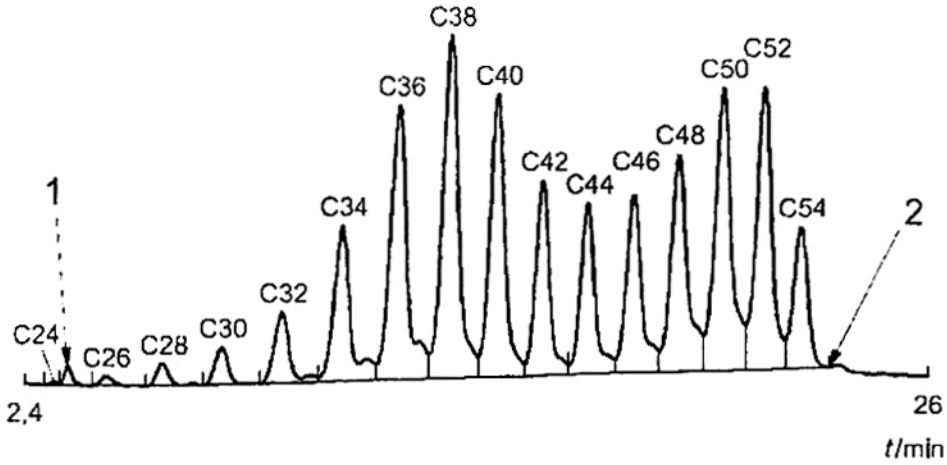


CHÚ DẪN:

1 là cholesterol

t là thời gian

Hình 1 – Ví dụ về sắc ký đồ triglycerid của chất béo sữa có hiệu chỉnh đường nền

**CHÚ DẪN:**

- 1 là cholesterol
- 2 là đường nền chưa hiệu chỉnh điểm kết thúc
- t là thời gian

Hình 2 – Ví dụ về sắc ký đồ triglycerid của chất béo sữa chưa hiệu chỉnh đường nền

Để kiểm tra các điều kiện đo, so sánh hệ số biến thiên, C_V , tính bằng phần trăm, của các triglycerid khác nhau thu được từ ít nhất 10 phép phân tích với các giá trị thu được trong Bảng 1 dựa trên 19 phép phân tích liên tiếp của cùng mẫu chất béo sữa.

Nếu các giá trị C_V thu được cao hơn đáng kể so với các giá trị nêu trong Bảng 1 thì các điều kiện sắc ký là không thích hợp.

CHÚ THÍCH: Các giá trị nêu trong Bảng 1 là không bắt buộc, nhưng các giá trị này dùng cho mục đích kiểm soát chất lượng.

Tuy nhiên, nếu chấp nhận các giá trị C_V cao hơn, thì các giới hạn độ lặp lại và độ tái lập nêu trong Điều 11 phải được đáp ứng.

Bảng 1 – Hệ số biến thiên các hàm lượng triglycerid

Triglycerid	Hệ số biến thiên, C_v , %
C24	10,0
C26	2,69
C28	3,03
C30	1,76
C32	1,03
C34	0,79
C36	0,25
C38	0,42
C40	0,20
C42	0,26
C44	0,34
C46	0,37
C48	0,53
C50	0,38
C52	0,54
C54	0,75

10 Tính và biểu thị kết quả

10.1 Thành phần triglycerid

10.1.1 Tính kết quả

Tính phần khối lượng của từng triglycerid (đối với $i = C24, C26, C28, C30, C32, C34, C38, C40, C42, C44, C46, C48, C50, C52$ và $C54$) với cả cholesterol, w_i , bằng phần trăm khối lượng, của tổng hàm lượng triglycerid trong mẫu thử, theo Công thức (2) :

$$w_i = \frac{A_i f_i}{\sum (A_j f_j)} \times 100 \quad (2)$$

Trong đó:

A_i là diện tích pic của từng triglycerid trong mẫu thử ;

f_i là hệ số đáp ứng của từng triglycerid xác định được bằng hiệu chuẩn (8.3.3).

10.1.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả đến bốn chữ số thập phân.

10.2 Giá trị S

10.2.1 Tính kết quả

10.2.1.1 Yêu cầu chung

Tính các giá trị S bằng cách đưa w_i tính được trong (10.1.1) của các triglycerid tương ứng tính theo phần trăm vào Công thức (3) đến (7). Sử dụng tất cả các công thức không kể loại chất béo ngoại lai bị nghi ngờ nào.

CHÚ THÍCH: Mặc dù các giá trị S tính được từ các triglycerid, tính theo phần trăm, nhưng không biểu thị bằng phần trăm và không có đơn vị.

10.2.1.2 Đối với dầu đậu nành, hạt hướng dương, oliu, hạt cải dầu, hạt lanh, mầm lúa mạch, mầm ngô, hạt bông và dầu cá

$$S = 2,098\ 3\ w_{C30} + 0,728\ 8\ w_{C34} + 0,692\ 7\ w_{C36} + 0,635\ 3\ w_{C38} + 3,745\ 2\ w_{C40} - 1,292\ 9\ w_{C42} + 1,354\ 4\ w_{C44} + 1,701\ 3\ w_{C46} + 2,528\ 3\ w_{C50} \quad (3)$$

10.2.1.3 Đối với dầu nhân cọ và dầu dừa

$$S = 3,745\ 3\ w_{C32} + 1,113\ 4\ w_{C36} + 1,364\ 8\ w_{C38} + 2,154\ 4\ w_{C42} + 0,427\ 3\ w_{C44} + 0,580\ 9\ w_{C46} + 1,292\ 6\ w_{C48} + 1,030\ 6\ w_{C50} + 0,995\ 3\ w_{C52} + 1,239\ 6\ w_{C54} \quad (4)$$

10.2.1.4 Đối với dầu cọ và mỡ bò

$$S = 3,664\ 4\ w_{C28} + 5,229\ 7\ w_{C30} + 12,507\ 3\ w_{C32} + 4,428\ 5\ w_{C34} - 0,201\ 0\ w_{C36} + 1,279\ 1\ w_{C38} + 6,743\ 3\ w_{C40} - 4,271\ 4\ w_{C42} + 6,373\ 9\ w_{C46} \quad (5)$$

10.2.1.5 Đối với mỡ lợn

$$S = 6,512\ 5\ w_{C26} + 1,205\ 2\ w_{C32} + 1,733\ 6\ w_{C34} + 1,755\ 7\ w_{C36} + 2,232\ 5\ w_{C42} + 2,800\ 6\ w_{C46} + 2,543\ 2\ w_{C52} + 0,989\ 2\ w_{C54} \quad (6)$$

10.2.1.6 Đối với chất béo tổng số

$$S = 2,757\ 5\ w_{C26} + 6,407\ 7\ w_{C28} + 5,543\ 7\ w_{C30} - 15,324\ 7\ w_{C32} + 6,260\ 0\ w_{C34} + 8,010\ 8\ w_{C40} - 5,033\ 6\ w_{C42} + 0,635\ 6\ w_{C44} + 6,017\ 1\ w_{C46} \quad (7)$$

10.2.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

10.3 Phát hiện chất béo ngoại lai

So sánh các giá trị S thu được trong 10.2.1 với các giới hạn S tương ứng trong Bảng 2. Mẫu chất béo sữa được coi là tinh khiết khi năm giá trị S nằm trong giới hạn nêu trong Bảng 2. Tuy nhiên, nếu bất kỳ một giá trị S nào nằm ngoài giới hạn tương ứng, thì mẫu chất béo sữa được coi là có chứa chất béo ngoại lai.

Mặc dù các Công thức riêng rẽ từ (3) đến (6) nhạy với một số chất béo ngoại lai nhất định hơn so với Công thức (7) (xem Bảng B.1), nhưng chỉ có một kết quả dương tính thu được bằng một trong số các Công thức từ (3) đến (6) không cho phép kết luận loại chất béo ngoại lai.

Phụ lục B mô tả cách tính hàm lượng chất béo động vật hoặc thực vật trong chất béo sữa pha trộn nhưng chưa được đánh giá xác nhận và chỉ dùng để tham khảo.

Bảng 2 – Giá trị giới hạn S đối với chất béo sữa tinh khiết

Chất béo ngoại lai	Công thức	Giá trị giới hạn S^a
Đối với dầu đậu nành, hạt hướng dương, oliu, hạt cải dầu, hạt lanh, mầm lúa mạch, mầm ngô, hạt bông và dầu cá	(3)	Từ 98,05 đến 101,95
Đối với dầu nhân cọ và dầu dừa	(4)	Từ 99,42 đến 100,58
Dầu cọ và mỡ bò	(5)	Từ 95,90 đến 104,10
Mỡ lợn	(6)	Từ 97,96 đến 102,04
Tổng số	(7)	Từ 95,68 đến 104,32

^a được tính ở mức tin cậy 99 %, sao cho việc bổ sung chất béo ngoại lai chỉ cho biết nếu các giới hạn phát hiện của công thức tính bị vượt quá (xem Bảng B.1).

11 Độ chụm

11.1 Thử liên phòng thử nghiệm

Độ lặp lại và độ tái lập của các giá trị S thu được từ kết quả thử liên phòng thử nghiệm phù hợp với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1) và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[4]. Các giá trị độ lặp lại và độ tái lập được xác định theo Công thức từ (3) đến (7) bằng phân tích chất béo sữa tinh khiết và có thể không thể áp dụng cho chất nền khác với chất nền đã nêu. Chi tiết về phép thử liên phòng được nêu trong Phụ lục D.

CHÚ THÍCH: Các giới hạn lặp lại và tái lập có thể được sử dụng để tính độ không đảm bảo đo. Các giá trị giới hạn S mở rộng nêu trong Phụ lục C được dùng để tham khảo.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành trên vật liệu thử giống hệt nhau, trong 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 các giới hạn nêu trong Bảng 3.

Bảng 3 – Giới hạn lặp lại, r , đối với Công thức từ (3) đến (7)

Chất béo ngoại lai	Công thức	r
Dầu đậu nành, hạt hướng dương, oliu, hạt nho, hạt lanh, mầm lúa mạch, mầm ngô, hạt bông và dầu cá	(3)	0,22
Dầu nhân cọ và dầu dừa	(4)	0,11
Dầu cọ và mỡ bò	(5)	0,57
Mỡ lợn	(6)	0,28
Tổng số	(7)	0,66

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử đơn lẻ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, tiến hành thử trên vật liệu giống thử hệt nhau, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người khác nhau thực hiện, sử dụng các thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn các giá trị nêu trong Bảng 4.

Bảng 4 – Giới hạn tái lập, R , đối với Công thức từ (3) đến (7)

Chất béo ngoại lai	Công thức	R
Dầu đậu nành, hạt hướng dương, oliu, hạt cải dầu, hạt lanh, mầm lúa mạch, mầm ngô, hạt bông và dầu cá	(3)	0,61
Dầu nhân cọ và dầu dừa	(4)	0,26
Dầu cọ và mỡ bò	(5)	1,02
Mỡ lợn	(6)	0,38
Tổng số	(7)	1,26

12 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) phương pháp lấy mẫu đã dùng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã dùng, cũng như viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) tất cả các chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- e) kết quả thu được, hoặc nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Quy định)

Chuẩn bị cột nhồi

A.1 Thuốc thử, thiết bị và vật liệu

A.1.1 Toluene ($C_6H_5CH_3$)

A.1.2 Dung dịch dimetyldiclosilan [$Si(CH_3)_2Cl_2$]. Hòa tan 50 ml dimetyldiclorosilan trong 283 ml toluen (A.1.1).

A.1.3 Dung dịch bơ cacao, với bơ cacao 5 % phần khối lượng trong *n*-hexan (5.5) hoặc *n*-heptan (5.6).

A.1.4 Pha tĩnh, OV-1 3 % trên Gas ChromQ⁴⁾ cỡ hạt từ 125 μm đến 150 μm (100 mesh đến 120 mesh).

CHÚ THÍCH: Cỡ hạt được chuyển về micromet phù hợp với BS 410 (tất cả các phần)^[6].

A.1.5 Cột thủy tinh, đường kính trong 2 mm, dài 500 mm, hình chữ U.

A.1.6 Thiết bị nhồi cột

A.1.6.1 Cột nhồi, có đầu cuối có nắp vận, có đánh dấu lượng cần thiết pha tĩnh phải nhồi

A.1.6.2 Bộ lọc mịn, cỡ lỗ khoảng 100 μm và có nắp vận thích hợp để làm kín cột thủy tinh (xem A.3).

A.1.6.3 Bông thủy tinh đã silan hóa, đã khử hoạt tính.

A.1.6.4 Bộ rung, để phân bố đều pha tĩnh trong quá trình nhồi cột.

A.1.6.5 Dụng cụ silan hóa, để silan hóa bề mặt thủy tinh của cột.

A.1.6.6 Chai woulff.

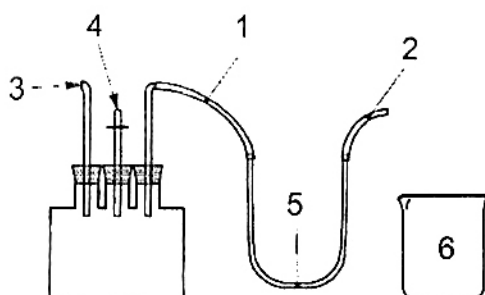
A.1.6.7 Bơm hút nước.

A.2 Silan hóa (khử hoạt tính bề mặt thủy tinh)

Sau khi nối chai Woulff (A.1.6.6) với bơm hút nước (A.1.6.7), nhúng ống nghiệm 2 (xem Hình A.1) vào dung dịch dimetyldiclosilan (A.1.2). Rót dung dịch này vào đầy cột thủy tinh (A.1.5) bằng cách đóng khóa. Mở lại khóa và sau đó lấy hai ống ra.

⁴⁾ Ví dụ về sản phẩm thích hợp có bán sẵn. Thông tin đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn và không án định phải sử dụng các sản phẩm này.

Để cột đứng yên. Dùng pipet lấy dung dịch dimetyldiclorosilan (A.1.2) cho vào đáy cột. Để yên cột từ 20 min đến 30 min.

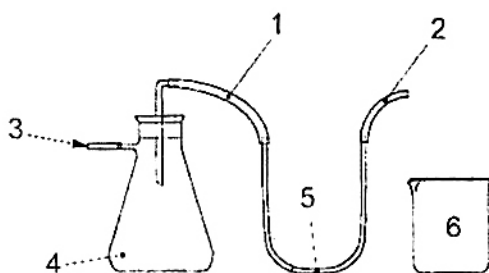


CHÚ DẪN:

- 1 ống 1
- 2 ống 2
- 3 đầu nối với bơm hút nước
- 4 khóa
- 5 cột thủy tinh
- 6 dimetyldiclorosilan và toluen

Hình A.1 – Thiết bị silan hóa

Thay chai Woufff bằng bình lọc. Làm rộng cột bằng cách nối cột với máy bơm hút nước (A.1.6.7) (xem Hình A.2). Tráng rửa cột bằng 75 ml toluen (A.1.1) rồi 50 ml metanol (5.4) bằng cách nhúng ống 2 vào các dung môi tương ứng. Làm khô cột đã tráng rửa trong tủ sấy (6.6) ở 100 °C trong khoảng 30 min.



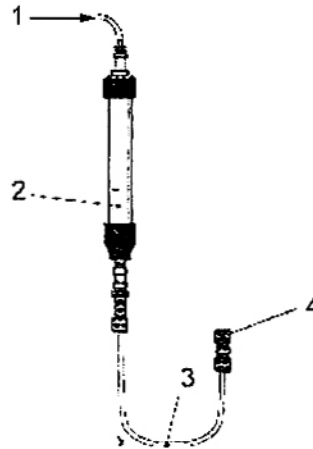
CHÚ DẪN:

- 1 ống 1
- 2 ống 2
- 3 đầu nối với bơm hút nước
- 4 bình lọc
- 5 cột thủy tinh
- 6 dung dịch tráng rửa

Hình A.2 – Thiết bị tráng rửa

A.3 Nhồi cột thủy tinh

Nhồi cột thủy tinh bằng cách sử dụng thiết bị trong Hình A.3. Rót đầy pha tĩnh (A.1.4) vào cột (A.1.6.1) đến vạch. Làm kín đầu dưới của cột thủy tinh bằng nút bông thủy tinh (A.1.6.3) nén đã silan hóa, dài khoảng 10 mm. Lắp đầu cuối của cột với nắp vận có bộ lọc mịn (A.1.6.2).



CHÚ DẪN:

- 1 ống dẫn nitơ
- 2 cột nhồi, được làm đầy đến vạch bằng OV-1
- 3 cột thủy tinh cần nhồi
- 4 nắp vận có bộ lọc, chịu được sự nén của sợi thủy tinh và pha tĩnh

Hình A.3 – Nhồi cột thủy tinh

Nhồi cột thủy tinh bằng pha tĩnh dưới áp lực (300 kPa và dòng khí nitơ). Để nhồi đều, liên tục và chắc, trong quá trình nhồi cột, cho cột rung lắc theo chiều lên và xuống. Sau khi nhồi, ấn nút bông thủy tinh đã silan hóa (A.1.6.3) vào đầu kia của cột đã nhồi. Cắt bỏ hai đầu nhô ra. Dùng dao ấn nút sâu vài milimet vào cột đã nhồi.

A.4 Ôn định cột

Trong khi thực hiện các bước từ a) đến c) dưới đây, không nối đầu cuối cột nhồi (xem A.3) vào detector để tránh nhiễm bẩn. Ôn định cột như sau:

- a) Thổi khí nitơ qua cột nhồi 15 min, với tốc độ dòng khí 40 ml/min và cài đặt nhiệt độ lò GC ở 50 °C.
- b) Gia nhiệt cột với tốc độ 1 °C/min đến 355 °C, với tốc độ dòng khí 10 ml/min.

TCVN 9972:2013

c) Giữ cột ở 355 °C trong 12 h đến 15 h.

d) Bơm hai lần, mỗi lần 1 µl dung dịch bơ cacao (A.1.3) sử dụng chương trình nhiệt độ đối với cột nhồi nêu trong 8.3.4.1.

CHÚ THÍCH: Dung dịch bơ cacao chứa hầu hết các triglycerid C50 đến C54 có điểm sôi cao, do đó, sẽ giảm hiệu quả ổn định cột liên quan đến các hệ số đáp ứng.

e) Bơm 20 lần, mỗi lần 0,5 µl dung dịch chất béo sữa phù hợp với 8.2 trong không quá 2 ngày sử dụng chế độ cài đặt cột nhồi nêu trong 8.3.4.1.

Chỉ sử dụng các cột nhồi có các hệ số đáp ứng gần bằng 1 để phân tích mẫu thử. Các hệ số đáp ứng không được lớn hơn 1,250 0.

Phụ lục B

(Tham khảo)

Định lượng hàm lượng chất béo ngoại lai

B.1 Yêu cầu chung

Bảng B.1 đưa ra các giới hạn phát hiện đối với các chất béo ngoại lai khác nhau tính được ở mức tin cậy 99 %. Cột giữa cho thấy các giới hạn phát hiện của Công thức riêng rẽ tốt nhất trong số từ Công thức (3) đến (6).

Các giới hạn phát hiện Công thức tổng số (7), cho thấy cột phải cho các giá trị cao hơn. Về nguyên tắc, Công thức (7) chỉ cần để định lượng chất béo ngoại lai.

Với tất cả các Công thức, có thể phát hiện được hỗn hợp của chất béo ngoại lai khác nhau. Sự dao động về thành phần TG giữa các mẫu đơn lẻ của một loại chất béo ngoại lai cũng không ảnh hưởng nhiều đến giới hạn phát hiện.

Khi sử dụng cả công thức riêng rẽ lẫn công thức tổng số, thì áp dụng các giới hạn phát hiện của các công thức riêng rẽ. Tuy nhiên, giá trị S của công thức tổng số được áp dụng để định lượng cho một số trường hợp nhất định (xem B.2).

**Bảng B.1 – 99 % các giới hạn phát hiện chất béo ngoại lai
được thêm vào chất béo sữa theo phần trăm**

Chất béo ngoại lai	Công thức riêng rẽ (%)	Công thức tổng số (%)
Dầu đậu nành	2,1	4,4
Dầu hướng dương	2,3	4,8
Dầu oliu	2,4	4,7
Dầu dừa	3,5	4,3
Dầu cọ	4,4	4,7
Dầu nhân cọ	4,6	5,9
Dầu hạt cải dầu	2,0	4,4
Dầu hạt lanh	2,0	4,0
Dầu mầm lúa mạch	2,7	6,4
Dầu mầm ngô	2,2	4,5
Dầu hạt bông	3,3	4,4
Mỡ lợn	2,7	4,7
Mỡ bò	5,2	5,4
Dầu cá đã hydro hóa	5,4	6,1

B.2 Tính kết quả

Chỉ tiến hành định lượng chất béo ngoại lai nếu có ít nhất một giới hạn S (Bảng 2 hoặc Bảng C.1) bị vượt quá. Để thu được thông tin về định lượng, tính phần khối lượng chất béo ngoại lai hoặc phần khối lượng của hỗn hợp chất béo ngoại lai, w_f , bằng phần trăm có trong mẫu thử, theo Công thức (B.1):

$$w_f = 100 \times \frac{(100 - S)}{(100 - S_f)} \quad (\text{B.1})$$

Trong đó:

S là kết quả thu được bằng cách đưa các dữ liệu triglycerid từ chất béo sữa có chứa chất béo ngoại lai hoặc hỗn hợp chất béo ngoại lai vào một trong các Công thức (3) đến (7);

S_f là hằng số, phụ thuộc vào loại chất béo ngoại lai được thêm vào.

Nếu chưa biết rõ loại chất béo ngoại lai được thêm vào chất béo sữa thì sử dụng giá trị S_f chung là 7,46 (xem Bảng 2). Luôn sử dụng giá trị S thu được từ Công thức (7), ngay cả khi các giới hạn S không bị vượt quá, nhưng vượt quá những giá trị của công thức khác.

Với chất béo ngoại lai thêm vào đã biết trước, thì đưa các giá trị S_f riêng rẽ (xem Bảng B.2) vào Công thức (B.1). Chọn công thức về chất béo ngoại lai tương ứng từ Công thức (3) đến (6) để tính S .

Bảng B.2 – Các giá trị S_f của các chất béo ngoại lai khác nhau

Chất béo ngoại lai	S_f
Chưa biết	7,46
Dầu đậu nành	8,18
Dầu hướng dương	9,43
Dầu oliu	12,75
Dầu dừa	118,13
Dầu cọ	7,55
Dầu nhân cọ	112,32
Dầu hạt cải dầu	3,30
Dầu hạt lanh	4,44
Dầu mầm lúa mạch	27,45
Dầu mầm ngô	9,29
Dầu hạt bông	41,18
Mỡ lợn	177,55
Mỡ bò	17,56
Dầu cá	64,12

B.3 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả đến hai chữ số thập phân.

Phụ lục C
(Tham khảo)

Độ không đảm bảo đo

C.1 Độ không đảm bảo đo mở rộng

Với các giá trị thu được về độ lặp lại, r (11.2) và độ tái lập, R (11.3), thì có thể tính được độ không đảm bảo đo mở rộng đối với giá trị S .

Đưa độ không đảm bảo đo mở rộng (phụ thuộc vào các phép phân tích lặp lại) vào các giới hạn S trong Bảng 2 cho các giới hạn S mở rộng nêu trong Bảng C.1.

**Bảng C.1 – Các giới hạn S mở rộng đối với chất béo sữa tinh khiết
bao gồm độ không đảm bảo đo mở rộng**

Chất béo ngoại lai	Công thức	Giới hạn S mở rộng
Dầu đậu nành, hạt hướng dương, oliu, hạt cải dầu, hạt lanh, mầm lúa mạch, mầm ngô, hạt bông và dầu cá	(3)	97,63 đến 102,37
Dầu nhân cọ và dầu dừa	(4)	99,24 đến 100,76
Dầu cọ và mỡ bò	(5)	95,23 đến 104,77
Mỡ lợn	(6)	97,73 đến 102,27
Tổng số	(7)	94,84 đến 105,16

CHÚ THÍCH: Các giới hạn S mở rộng trong bảng C.1 không thuộc phạm vi của tiêu chuẩn này, nhưng giúp cho việc đánh giá sự phù hợp của mẫu với các quy định hiện hành.

Phụ lục D

(Tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Phép thử liên phòng này gồm có 15 phòng thử nghiệm từ chín quốc gia thực hiện trên tám mẫu chất béo sữa dạng khan có xuất xứ từ Châu Âu, Nam Phi và New Zealand. Tám mẫu thử này được chia thành 16 cặp mẫu mù. Phép thử này do Max Rubner Institute (MRI), Cục Kiểm soát Chất lượng, An toàn Sữa và sản phẩm Thủy sản (DE) tổ chức. Các kết quả liên quan đến các giá trị S tính được không có đơn vị đo.

Sau khi nghiên cứu cẩn thận, các kết quả của năm phòng đã bị loại vì các lý do kỹ thuật và phương pháp thực hiện. Các kết quả còn lại được phân tích thống kê phù hợp với TCVN 6910-1 (ISO 5725-1)^[3] và TCVN 6910-2 (ISO 5725-2)^[4] để cho độ chụm nêu trong các Bảng D.1 đến D.5.

CHÚ THÍCH: Các kết quả chi tiết về nghiên cứu liên phòng thử nghiệm nêu trong Tài liệu tham khảo [13].

Bảng D.1 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm: Công thức (3)

Dầu đậu nành	Chất béo sữa dạng khan								Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	10	10	8	8	10	8	9	9	
Giá trị trung bình	99,89	99,72	99,78	99,60	99,75	99,23	100,18	100,62	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,03	0,05	0,08	0,07	0,14	0,05	0,14	0,07	0,08
Hệ số biến thiên lặp lại	0,03	0,05	0,08	0,07	0,14	0,05	0,14	0,07	0,08
Giới hạn lặp lại, $r (= 2,8 s_r)$	0,09	0,14	0,21	0,19	0,39	0,15	0,39	0,20	0,22
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,19	0,25	0,14	0,19	0,23	0,24	0,26	0,23	0,22
Hệ số biến thiên tái lập	0,19	0,25	0,14	0,19	0,23	0,24	0,26	0,23	0,22
Giới hạn tái lập, $R (= 2,8 s_R)$	0,53	0,70	0,40	0,53	0,64	0,66	0,74	0,65	0,61

Bảng D.2 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm: Công thức (4)

Dầu dừa	Chất béo sữa dạng khan								Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	9	10	9	10	10	9	10	10	
Giá trị trung bình	99,84	99,87	99,93	99,93	99,91	100,11	99,87	99,89	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,03	0,06	0,03	0,05	0,04	0,02	0,03	0,04	0,04
Hệ số biến thiên lặp lại	0,03	0,06	0,03	0,05	0,04	0,02	0,03	0,04	0,04
Giới hạn lặp lại, $r (= 2,8 s_r)$	0,09	0,16	0,10	0,14	0,12	0,06	0,08	0,12	0,11
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,06	0,11	0,11	0,09	0,09	0,10	0,11	0,07	0,09
Hệ số biến thiên tái lập	0,06	0,11	0,11	0,09	0,09	0,10	0,11	0,07	0,09
Giới hạn tái lập, $R (= 2,8 s_R)$	0,18	0,31	0,30	0,25	0,25	0,28	0,31	0,20	0,26

Bảng D.3 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm: Công thức (5)

Dầu cọ	Chất béo sữa dạng khan								Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	9	10	9	8	10	9	9	9	
Giá trị trung bình	100,58	99,83	100,04	99,98	100,36	99,12	102,02	101,71	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,10	0,21	0,32	0,20	0,28	0,21	0,18	0,11	0,20
Hệ số biến thiên lặp lại	0,10	0,21	0,32	0,20	0,28	0,21	0,18	0,10	0,20
Giới hạn lặp lại, $r (= 2,8 s_r)$	0,28	0,59	0,90	0,57	0,79	0,60	0,51	0,30	0,57
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,26	0,38	0,47	0,25	0,37	0,32	0,54	0,32	0,37
Hệ số biến thiên tái lập	0,26	0,38	0,47	0,25	0,37	0,32	0,53	0,32	0,36
Giới hạn tái lập, $R (= 2,8 s_R)$	0,73	1,07	1,33	0,71	1,04	0,89	1,52	0,90	1,02

Bảng D.4 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm: Công thức (6)

Mỡ lợn	Chất béo sữa dạng khan								Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	10	9	9	10	9	10	9	10	
Giá trị trung bình	100,33	100,42	100,35	100,53	100,26	100,61	100,05	99,43	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,09	0,06	0,13	0,06	0,10	0,10	0,12	0,15	0,10
Hệ số biến thiên lặp lại	0,09	0,06	0,13	0,06	0,10	0,10	0,12	0,15	0,10
Giới hạn lặp lại, $r (= 2,8 s_r)$	0,26	0,17	0,37	0,16	0,27	0,29	0,34	0,41	0,28
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,13	0,13	0,13	0,16	0,10	0,15	0,12	0,16	0,14
Hệ số biến thiên tái lập	0,13	0,13	0,13	0,16	0,10	0,15	0,12	0,16	0,13
Giới hạn tái lập, $R (= 2,8 s_R)$	0,36	0,36	0,37	0,45	0,27	0,43	0,34	0,45	0,38

Bảng D.5 – Các kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm: Công thức (7)

Công thức tổng	Chất béo sữa dạng khan								Trung bình
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Số lượng phòng thử nghiệm còn lại sau khi trừ ngoại lệ	9	10	9	9	10	10	9	19	
Giá trị trung bình	100,57	99,81	100,36	99,94	100,33	98,74	101,53	101,49	
Độ lệch chuẩn lặp lại, s_r	0,14	0,29	0,33	0,34	0,31	0,21	0,16	0,11	0,24
Hệ số biến thiên lặp lại	0,14	0,29	0,33	0,34	0,31	0,21	0,16	0,11	0,24
Giới hạn lặp lại, $r (= 2,8 s_r)$	0,40	0,81	0,91	0,95	0,86	0,58	0,46	0,32	0,66
Độ lệch chuẩn tái lập, s_R	0,33	0,44	0,57	0,37	0,42	0,56	0,57	0,33	0,45
Hệ số biến thiên tái lập	0,33	0,45	0,57	0,37	0,42	0,56	0,56	0,33	0,45
Giới hạn tái lập, $R (= 2,8 s_R)$	0,93	1,25	1,60	1,04	1,19	1,56	1,59	0,92	1,26

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*
- [2] TCVN 7150 (ISO 835), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet chia độ*
- [3] 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.*
- [4] 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.*
- [5] BS 410 (all parts), Test sieves – Technical requirements⁵⁾.
- [6] PRECHT, D. Control of milk fat purity by gas chromatographic triglyceride analysis. *Kiel. Milchwirtsch. Forschungsber.* 1991, **43**, pp.219-242
- [7] PRECHT, D. Detection of adulterated milk fat by fatty acid and triglyceride analyses. *Fat Sci. Technol.* 1991, **93**, pp. 538-544
- [8] PRECHT, D. MOLKENTIN, J. Quantitative triglyceride analysis using short capillary columns. *Chrompack News.* 1993, **4**, pp. 16-17
- [9] MOLKENTIN, J., PRECHT, D. Comparison of packed and capillary columns for quantitative gas chromatography of triglycerides in milk fat. *Chromatographia* 1994, **39**, pp. 265-270
- [10] MOLKENTIN, J., PRECHT, D. Equivalence of packed and capillary GC columns for detection of foreign fat in butter by use of the triglyceride formula method. *Chromatographia* 2000, **52**, pp. 791-797
- [11] MOLKENTIN, J., PRECHT, D. Representative determination of the butyric acid content in European milk fats. *Milchwissenschaft* 1997, **52**, pp. 82-85
- [12] MOLKENTIN, J. Detection of foreign fat in milk fat from different continents by triacylglycerol analysis. *Eur.J. Lipid Sci. Technol.* 2007, **109**, pp. 505-510
- [13] MOLKENTIN, J., CRAWFORD, RA. International collaborative study on the gas-liquid chromatographic method for the determination of milk fat purity in milk and milk products by analysis of triglycerides - Draft International Standard ISO 17678/IDF 202. *Bull. IDF* 2009, (434), pp. 1-9
- [14] POVOLO, M., PELIZZOLA, V., CONTARINI, G: Directly resistively heated-column gas chromatography for the evaluation of cow milk fat purity. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2008, **110**, pp. 1051-1057

⁵⁾ Tương đương với ISO 3310 (tất cả các phần).