

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 9614 : 2013**

**ISO 17059:2007**

Xuất bản lần 1

**HẠT CÓ DẦU – CHIẾT DẦU VÀ CHUẨN BỊ  
METYL ESTE CỦA CÁC AXIT BÉO TRIGLYXERID  
ĐỂ PHÂN TÍCH SẮC KÍ KHÍ (PHƯƠNG PHÁP NHANH)**

*Oilseeds -- Extraction of oil and preparation of methyl esters  
of triglyceride fatty acids for analysis by gas chromatography ( Rapid method)*

**HÀ NỘI - 2013**

**Lời nói đầu**

TCVN 9614:2013 hoàn toàn tương đương với ISO 17059:2007;

TCVN 9614:2013 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.

## Lời giới thiệu

Phép phân tích sắc ký về các methyl este của axit béo (FAME) của khô dầu đòi hỏi việc chiết dầu ra khỏi hạt có dầu. Hiện nay, chưa có tiêu chuẩn nào quy định phương pháp chiết dầu từ hạt có dầu để phân tích FAME. Các phương pháp thường được sử dụng trong các phòng thử nghiệm bao gồm việc chiết dầu để xác định hàm lượng dầu tốn nhiều thời gian<sup>[2], [3]</sup>. Vì vậy, tổng thời gian và giá thành phân tích các axit béo triglycerid trong hạt có dầu kể cả việc chiết dầu, chuẩn bị và phân tích sắc ký khí các FAME tăng đáng kể do bước tách chiết dầu.

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp nhanh và tối ưu cho việc chiết hỗn hợp dầu và chuẩn bị FAME. Dầu chỉ được chiết một phần ra khỏi các hạt và các phần chiết được đủ để đại diện cho hàm lượng dầu tổng số khi áp dụng phương pháp này cho các loại hạt quy định trong Phạm vi áp dụng<sup>[4], [5]</sup>. FAME được chuẩn bị theo phương pháp chuyển hóa este quy định trong ISO 5509 và được điều chỉnh chút ít để áp dụng cho các dung dịch iso-octan của dầu.

Hiện nay chưa có phương pháp chiết dầu chuẩn, phương pháp chiết dầu quy định trong tiêu chuẩn này đã được so sánh với phương pháp quy định trong TCVN 8948 (ISO 659)<sup>[2]</sup> trong phép thử liên phòng thử nghiệm<sup>[6]</sup>. Kết quả đã cho thấy sự tương thích giữa hai phương pháp, trừ trường hợp được áp dụng cho hạt có dầu có hàm lượng axit erucic cao. Khi đó, phương pháp này cho các giá trị hàm lượng erucic cao hơn khoảng 1 % khối lượng.

## Hạt có dầu – Chiết dầu và chuẩn bị metyl este của các axit béo triglyxerid để phân tích sắc ký khí (Phương pháp nhanh)

*Oilseeds – Extraction of oil and preparation of methyl esters of triglyceride fatty acids for analysis by gas chromatography (Rapid method)*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp nhanh để chiết dầu và chuẩn bị metyl este của các axit béo. Các metyl este thu được có thể được để phân tích sắc ký khí.

Tiêu chuẩn này có thể áp dụng cho các hạt có dầu sau đây: hạt cải dầu, hạt hướng dương, hạt đậu tương, hạt mù tạt, hạt lanh.

CHÚ THÍCH: Việc áp dụng phương pháp này cho các hạt cải dầu có chứa hàm lượng axit erucic cao dẫn đến việc ước lượng quá mức hàm lượng axit erucic, khoảng 1 % khối lượng.

### 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 9608 (ISO 664), *Hạt có dầu – Chuẩn bị mẫu thử từ mẫu phòng thử nghiệm*.

ISO 5509:2000<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 metyl este của các axit béo)*.

<sup>1)</sup> ISO 5509:2000 đã bị hủy, hiện nay có ISO 12966-2:2011 và được chấp nhận thành TCVN 9675-2:2013 (ISO 12966-2:2011) *Dầu mỡ động vật và thực vật – Sắc ký khí các metyl este của axit béo – Phần 2: Chuẩn bị metyl este của axit béo*.

### 3 Nguyên tắc

Dầu được chiết lạnh từ các hạt đã nghiền thô bằng cách lắc trong iso-octan. Sau khi lọc, các axit béo triglyxerid có mặt trong dung dịch iso-octan bị este hóa thành các metyl este bằng kali hydroxit.

### 4 Thuốc thử

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

4.1 Iso-octan (2,2,4-trimethylpentan) loại dùng cho sắc ký. Xem Phụ lục A.

4.2 Natri sulfat khan.

4.3 Các thuốc thử khác dùng cho việc chuẩn bị các metyl este được quy định trong 5.3.1 và 5.3.3, ISO 5509:2000.

### 5 Thiết bị, dụng cụ

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

5.1 Máy nghiền, loại máy nghiền cà phê.

5.2 Ống nghiệm, bằng thủy tinh, dung tích 10 ml, có nắp mài hoặc nắp vận và nắp PTFE.

5.3 Pipet chia độ, dung tích 5 ml.

5.4 Pipet Pasteur, chiều dài 150 mm, được làm đầy bằng bông thủy tinh và natri sulfat khan đến chiều cao 20 mm.

5.5 Ống nghiệm, bằng thủy tinh, dung tích 5 ml, có nắp mài hoặc nắp vận và nắp PTFE.

5.6 Lọ thủy tinh, dung tích 2 ml, có nắp vận và nắp PTFE.

### 6 Lấy mẫu

Điều quan trọng là phòng thử nghiệm nhận được đúng mẫu đại diện và mẫu không bị hư hỏng hoặc biến đổi trong suốt quá trình vận chuyển hoặc bảo quản.

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo phương pháp được quy định trong TCVN 8497 (ISO 542)<sup>(1)</sup>.

## 7 Cách tiến hành

### 7.1 Chuẩn bị mẫu thử

Giảm mẫu theo TCVN 9608 (ISO 664) và nghiền một lượng khoảng 10 g mẫu bằng máy nghiền (5.1) trong 15 s.

CHÚ THÍCH: Đối với mẫu thử có bản chất không đồng nhất, nghĩa là mẫu có chứa lượng đáng kể các hạt khó tách rời (như hạt *Sinapis arvensis* ở cây cải dầu) thì có thể cần một mẫu có khối lượng lớn hơn (25 g) để đảm bảo ước lượng chính xác các axit béo.

### 7.2 Phân mẫu thử

#### 7.2.1 Yêu cầu chung

Phân mẫu thử của nguyên liệu đã nghiền phải được điều chỉnh phụ thuộc vào hàm lượng dầu của mẫu để cho phép chiết khoảng 100 mg dầu.

#### 7.2.2 Hạt có hàm lượng dầu vượt quá 30 % khối lượng (hạt cải dầu, hạt mù tạt, hạt hướng dương và hạt lanh)

Trộn rời cân khoảng 0,40 g nguyên liệu đã nghiền, chính xác đến 0,02 g, cho vào ống nghiệm 10 ml (5.2).

#### 7.2.3 Hạt có hàm lượng dầu từ 15 % đến 30 % khối lượng (hạt đậu tương)

Trộn rời cân khoảng 0,80 g nguyên liệu đã nghiền, chính xác đến 0,04 g, cho vào ống nghiệm 10 ml (5.2).

### 7.3 Chiết dầu

Dùng pipet (5.3), cho 5 ml iso-octan (4.1) vào ống nghiệm có chứa nguyên liệu đã nghiền và đậy nắp. Lắc trong 2 min, để lắng hoặc li tâm, nếu cần.

Nếu phần nổi phía trên của chất chiết không trong thì tiến hành lọc và làm khô (7.4).

Nếu phần nổi phía trên của chất chiết trong thì không cần lọc và sấy. Chuyển 3 ml phần nổi phía trên vào ống nghiệm 5 ml (5.5). Chất chiết này được sử dụng luôn để chuẩn bị metyl este (7.5).

### 7.4 Lọc và làm khô chất chiết

Đặt pipet Pasteur (5.4) có chứa natri sulfat khan (4.2) lên trên ống nghiệm 5 ml (5.5). Chuyển phần nổi phía trên của chất chiết (7.3) vào pipet Pasteur và để chảy khoảng 3 ml chất chiết vào trong ống nghiệm. Chất chiết này sau đó được sử dụng ngay để chuẩn bị metyl este (7.5).

### **7.5 Chuẩn bị metyl este**

Tiến hành theo 5.6.2.2 đến 5.6.2.4 của ISO 5509:2000, trên chất chiết đã được chuẩn bị trong ống nghiệm 5 ml (7.3 hoặc 7.4).

CHÚ THÍCH Thuốc thử được quy định trong 5.3.1 và 5.3.3 của ISO 5509:2000.

Chuyển phần nổi phía trên có chứa metyl este (có pha loãng hoặc không, theo 5.6.2.4 của ISO 5590:2000 và chế độ bơm trong máy sắc ký khí) vào lọ thủy tinh 2 ml (5.6) có nắp đậy. Dung dịch này được bơm ngay vào máy sắc ký khí.

### **8 Báo cáo thử nghiệm**

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- tất cả 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 đến tiêu chuẩn này;
- mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc tùy chọn, cùng với các chi tiết bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

**Phụ lục A**  
**(Quy định)**

**Quy trình phân tích chung**

**A.1 Thuốc thử**

Các thuốc thử được sử dụng không được tạo các pic nhiễu đến các pic metyl este của axit béo trong quá trình chạy sắc ký khí lỏng.

Do đó, mỗi mẻ thuốc thử hoặc dung môi mới cần phải được kiểm tra bằng cách sử dụng chúng để chuẩn bị và phân tích metyl este của axit oleic tinh khiết bằng phương pháp sắc ký khí lỏng. Nếu xuất hiện thêm các pic bất kỳ thì cần loại bỏ thuốc thử.

**A.2 Bảo quản dung dịch metyl este**

Các este nên được phân tích càng sớm càng tốt. Nếu cần, dung dịch iso-octan có chứa metyl este có thể được bảo quản trong khí trơ để trong tủ lạnh.

Khi dung dịch cần được bảo quản trong một thời gian dài, nên bảo quản metyl este khỏi bị tự oxy hóa bằng cách thêm vào dung dịch chất chống oxy hóa mà không làm ảnh hưởng đến các phép phân tích tiếp theo, ví dụ dung dịch BHT (2,6-di-*t*-butyl-4-metylphenol) 0,05 g/l.



**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] TCVN 8947:2011 (ISO 542:1990), *Hạt có dầu – Lấy mẫu.*
- [2] ISO 659:1998<sup>\*)</sup>, *Oilseeds – Determination of oil content (Reference method)*
- [3] XP V 03-030:1991 (French standard), *Agricultural products and foodstuffs – Extraction of the crude fat with a view to its characterization*
- [4] BLIN, F, 1998. *Rapid extraction of oil from oilseeds with a view to the analysis of fatty acids*, Report-CETIOM
- [5] QUINSAC, A and BLIN, F. Validation of a rapid method to extract oil in oleaginous seeds for fatty acid analysis, *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Rapeseed Congress, Canberra, Australia, September 26 to 29, 1999*, 122
- [6] CETIOM, 2002, *Report of the Ring-test (January – April 2001): Comparison between ISO/WD 17059 and ISO 659 – ISO 5509*
- [7] TCVN 6910-1:2001 (ISO 5725-1:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc chung và định nghĩa.*
- [8] TCVN 6910-2:2001 (ISO 5725-2:1994), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 2: Phương pháp chuẩn để xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo chuẩn.*

---

<sup>\*)</sup> ISO 659:1998 đã bị hủy, hiện nay có ISO 659:2009 và được chấp nhận thành TCVN 8948:2011 (ISO 659:2009), *Hạt có dầu – Xác định hàm lượng dầu (Phương pháp chuẩn).*