

TCVN 6760 : 2007

ISO 9832 : 2002

Xuất bản lần 2

**DẦU MỠ ĐỘNG VẬT VÀ THỰC VẬT –
XÁC ĐỊNH DƯ LƯỢNG HEXAN KỸ THUẬT**

*Animal and vegetable fats and oils –
determination of residual technical hexane content*

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 6760 : 2007 thay thế TCVN 6760 : 2000;

TCVN 6760 : 2007 hoàn toàn tương đương với ISO 9832 : 2002;

TCVN 6760: 2007 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC/F2 *Dầu mỡ động vật và thực vật* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Dầu mỡ động vật và thực vật – Xác định dư lượng hexan kỹ thuật

Animal and vegetable fats and oils –

Determination of residual technical hexane content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định dư lượng hexan kỹ thuật của dầu mỡ động vật và thực vật (dưới đây gọi là các chất béo).

Phương pháp này thích hợp cho việc xác định hàm lượng hexan trong khoảng từ 10 mg đến 1 500 mg trên kilogam chất béo.

Phương pháp này không áp dụng cho các loại dầu cá biển.

2 Tiêu chuẩn viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 6128 : 2007 (ISO 661 : 2003), Dầu mỡ động vật và thực vật – Chuẩn bị mẫu thử.

3 Thuật ngữ và định nghĩa

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

3.1

dư lượng hexan kỹ thuật (residual technical hexane content)

hàm lượng các hydrocacbon bay hơi bị giữ lại trong chất béo khi chế biến do sử dụng các dung môi hydrocacbon, được xác định bằng phương pháp qui định trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH: Dư lượng hexan kỹ thuật được biểu thị bằng miligam hexan trên kilogam mẫu.

4 Nguyên tắc

Khử hydrocacbon bay hơi bằng cách đun nóng ở nhiệt độ 80 °C trong bình kín sau khi đã thêm chất nội chuẩn. Xác định hàm lượng hydrocacbon bay hơi cụ thể trong khoảng không phía trên bằng sắc ký khí dùng cột nhồi hoặc cột mao dẫn.

5 Thuốc thử

Sử dụng các loại thuốc thử tinh khiết phân tích, trừ khi có các qui định khác, nước cất hay nước đã loại khoáng hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

5.1 Hexan kỹ thuật, có thành phần giống thành phần của hexan được sử dụng trong sản xuất công nghiệp, hoặc nếu không có thì sử dụng *n*-hexan.

Nên sử dụng hexan kỹ thuật để hiệu chuẩn. Thuốc thử này thường có hàm lượng *n*-hexan 50 % (m/m) và chứa phần lớn các chất đồng phân C₆ nhưng cũng có thể chứa cả hydrocacbon C₅ và C₇.

5.2 Chất nội chuẩn, n-heptan.

Nếu không sẵn có n-heptan thì có thể sử dụng xyclohexan, với điều kiện là dung môi (5.1) sử dụng để chiết hoặc hiệu chuẩn xyclohexan và/hoặc n-heptan có hàm lượng không đáng kể hoặc các thành phần khác có thời gian lưu tương tự.

5.3 Khí mang, ví dụ: hydro, nitơ hoặc heli .v.v... đã được sấy kỹ và có hàm lượng oxy nhỏ hơn 10 mg/kg.

5.4 Khí phụ trợ, hydro (99,9 %, tinh khiết, không chứa các tạp chất hữu cơ) và không khí (không chứa các tạp chất hữu cơ).

5.5 Chất béo để hiệu chuẩn, chất béo thực vật đã khử mùi và mới tinh chế, chứa một lượng hexan kỹ thuật không đáng kể.

Chất béo để hiệu chuẩn này không được chứa peroxit hoặc các thành phần khác làm phân hủy tạo thành chất bay hơi mà có thể gây nhầm lẫn với hydrocacbon trong quá trình thử nghiệm.

6 Thiết bị, dụng cụ

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

6.1 Lọ thủy tinh với lớp màng ngăn, dung tích 20 ml.

6.2 Màng ngăn, trơ với chất béo và dung môi, được làm bằng vật liệu như cao su butyl hoặc cao su đỏ, không chứa các cặn dung môi hydrocacbon và có chất lượng thích hợp để chúng không nở ra trong khi sử dụng, nắp nhôm là thích hợp để dùng với lọ (6.1) và kẹp gấp.

6.3 Kẹp, thích hợp để giữ các lọ (6.1).

6.4 Xyranh, dung tích 10 µl, chỉ sử dụng để phân tích dư lượng hexan kỹ thuật. Không được rửa chúng bằng dung môi hydrocacbon.

6.5 Xyranh, dung tích 1 µl chỉ sử dụng để phân tích dư lượng hexan kỹ thuật. Không được rửa chúng bằng dung môi hydrocacbon.

6.6 Xyranh kín khí, dung tích 1 000 µl, chỉ sử dụng để phân tích dư lượng hexan kỹ thuật. Không được rửa chúng bằng dung môi hydrocacbon.

6.7 Sắc ký khí, có detector ion hóa ngọn lửa và bộ tích phân và/hoặc máy ghi, được trang bị với hoặc là:

a) cột thủy tinh nhồi, dài 2 m đến 4 m và có đường kính trong khoảng 3,2 mm, được nhồi bằng diatomit đã rửa bằng axit, có cỡ hạt từ 150 µl đến 180 µl (Chromosorb P NAW 60-80 mesh là thích hợp)¹⁾, được phủ bằng 10 % chất chống oxi hóa có nguồn gốc từ động vật biển hoặc bất kỳ pha nào khác để tách được sắc phổ theo yêu cầu, hoặc;

b) cột mao dẫn thủy tinh, dài khoảng 30 m và có đường kính trong khoảng 0,3 mm, được phủ bằng màng mỏng metylpolysiloxan 0,2 µm.

Nhiệt độ bơm mẫu và phát hiện phải ở 100 °C và nhiệt độ tử sấy ở 50 °C.

Nếu sử dụng cột mao dẫn [xem b)], thì thiết bị phải có hệ thống bơm mẫu chia dòng 1/100.

CHÚ THÍCH: Để phân tích hàng loạt thì sắc ký khí buồng không gian hơi với bơm mẫu tự động và bể trộn là thích hợp. Trong trường hợp này bơm tay là không cần thiết.

6.8 Nồi cách thủy, được trang bị bộ kẹp để giữ các lọ, được điều chỉnh nhiệt độ ở $80^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

CHÚ THÍCH: Để thực hiện liên tục, nên dùng glyxerol làm môi trường đun nóng.

6.9 Máy lắc.

¹⁾ Chromosorb P NAW 60 - 80 là ví dụ về sản phẩm phù hợp, dễ tìm thấy trong thương mại. Thông tin này đưa ra tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và ISO không ấn định phải sử dụng chúng.

7 Lấy mẫu

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

Việc lấy mẫu không quy định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 2625 : 2007 (ISO 5555 : 2001).

Bảo vệ mẫu tránh hấp thụ hoặc thất thoát dung môi.

8 Chuẩn bị mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6128 : 2007 (ISO 661 : 2003), chú ý tránh bị hấp thụ hoặc thất thoát dung môi.

9 Cách tiến hành

9.1 Hiệu chuẩn

9.1.1 Cân 5 g chất béo hiệu chuẩn (5.5) chính xác đến 0,01 g cho vào từng lọ trong dãy bảy lọ (6.1). Đậy các lọ bằng màng ngăn và nắp (6.2).

Dùng xyranh (6.4 hoặc 6.5) lấy lượng dung môi (5.1) như qui định trong Bảng 1 cho vào sáu trong bảy lọ (6.1) để thu được các nồng độ qui định. Không cho dung môi vào lọ thứ bảy.

Lắc mạnh sáu lọ đã thêm dung môi bằng máy lắc (6.9) khoảng 1 h ở nhiệt độ phòng.

9.1.2 Cuối giai đoạn này dùng xyranh (6.4) tiêm 5 $\mu\text{l} \pm 0,1 \mu\text{l}$ chất nội chuẩn (5.2) vào tất cả bảy lọ qua màng ngăn.

Đối với nồng độ hexan từ 10 mg/kg đến 20 mg/kg, thích hợp nhất là thêm 2 μl chất nội chuẩn (5.2).

Lắc mạnh trong 1 min bằng cách dùng tay xoay tròn theo mặt phẳng nằm ngang sao cho chất béo không chạm đến màng ngăn. Nếu chất béo chạm đến màng ngăn thì hủy bỏ lọ này và bắt đầu làm lại với phần chất béo hiệu chuẩn khác.

CẢNH BÁO – Nếu chất béo dính vào màng ngăn thì nó sẽ nhiễm bẩn kim tiêm khi lấy mẫu phần khí ở trên và chất nhiễm bẩn có thể truyền sang cột, điều quan trọng là khi sử dụng cột mao dẫn phải tránh sự nhiễm bẩn này.

Cứ sau khoảng 15 min (tức là thời gian lưu của chất nội chuẩn), đặt ngay một lọ ngập đến cổ trong nồi cách thủy (6.8) ở 80 °C để chất béo và pha khí đạt được độ cân bằng.

Bảng 1 – Hàm lượng hexan trong các mẫu hiệu chuẩn

Thể tích dung môi (5.1) được cho thêm	Hàm lượng hexan (mg/kg) khi sử dụng	
	hexan kỹ thuật	n- hexan
0,5	67	66
1	134	132
2	268	264
4	536	528
7	938	924
10	1340	1320

9.1.3 Từ mỗi lọ đã được làm nóng ở bể đun nóng trong $60 \text{ min} \pm 1 \text{ min}$, dùng xyranh (6.6) đã được làm ấm đến 60°C lấy 1 000 μl pha khí (vẫn để nguyên trong bể đun nóng). Bơm ngay pha khí đã lấy vào sắc ký khí.

9.1.4 Từ sắc đồ tương ứng với lọ thứ bảy không cho thêm dung môi, tính hàm lượng hexan A_c , biểu thị bằng phần trăm của tổng diện tích pic.

9.1.5 Từ sắc đồ tương ứng với lọ đã cho thêm dung môi, tính hệ số hiệu chuẩn F theo công thức sau:

$$F = \frac{w_h \times A_{is}}{(A_t - A_c - A_{is}) \times w_{is}}$$

trong đó:

A_c là hàm lượng hexan tính được trong 9.1.4;

A_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic;

A_t là hàm lượng hydrocacbon tổng số, kể cả chất nội chuẩn có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic;

w_h là hàm lượng dung môi (5.1) có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng miligam trên kilogam;

w_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn có trong chất béo hiệu chuẩn (5.5) đã được thêm dung môi, tính bằng miligam trên kilogam, tức là 680 đối với n-heptan hoặc 780 đối với xyclohexan.

CHÚ THÍCH: Nếu chỉ cho thêm 2 µl trong 9.1.2 thì w_{is} , sẽ bằng 272 đối với n-heptan hoặc 312 đối với xyclohexan.

Lấy kết quả đến chữ số thứ ba sau dấu phẩy.

Các hệ số hiệu chuẩn của sáu mẫu hiệu chuẩn phải xấp xỉ bằng nhau. Tính giá trị trung bình $\bar{F}$, sẽ khoảng 0,45 đối với heptan. Hệ số $\bar{F}$ tính được đó có thể sử dụng để xác định các hàm lượng hexan ở mức độ nhỏ hơn 60 mg/kg. Nếu giá trị $\bar{F}$ tính được đối với lọ chứa 0,5 µl dung môi (5.1) thấp hơn đáng kể so với giá trị trung bình $\bar{F}$, thì sai lệch này có thể là do khó khăn trong việc lấy chính xác 0,5 µl và loại bỏ phép xác định này và lặp lại phép xác định mới.

Hệ số hiệu chuẩn trung bình đối với xyclohexan thông thường khoảng 0,57 và đối với n-heptan là khoảng 0,45.

9.2 Tiến hành xác định

9.2.1 Cân 5 g phần mẫu thử (điều 8), chính xác đến 0,01 g cho vào lọ (6.1) càng nhanh càng tốt. Đậy màng ngăn và nắp (6.2).

9.2.2 Dùng xyranh (6.4) tiêm 5 µl chất nội chuẩn (5.2) qua màng ngăn. Lắc mạnh lượng chứa trong lọ khoảng 1 min bằng cách dùng tay xoay tròn theo mặt phẳng nằm ngang sao cho chất béo không chạm đến màng ngăn. Nếu chất béo chạm đến màng ngăn thì hủy bỏ lọ này và thực hiện lại với phần chất béo hiệu chuẩn khác. (Xem cảnh báo trong 9.1.2). Đặt lọ ngập đến cổ trong nồi đun nóng (6.8) ở nhiệt độ 80 °C trong 60 min $\pm$ 1 min.

9.2.3 Dùng xyranh (6.6) đã được làm ấm đến 60 °C để lấy 1 000 µl pha khí trong khi vẫn để nguyên lọ trong bể đun nóng. Tiêm ngay pha khí đã lấy vào sắc ký khí.

9.2.4 Xác định dư lượng hexan kỹ thuật của mẫu từ sắc đồ (xem Hình 1), đo các pic nhận biết được là từ hexan và không phải từ các sản phẩm phân hủy.

9.3 Số phép xác định

Tiến hành xác định liên tiếp nhanh trên hai phần mẫu thử của cùng một mẫu thử.

10 Biểu thị kết quả

Hàm lượng hexan kỹ thuật của mẫu, w , tính bằng miligam trên kilogam theo công thức sau đây:

$$w = \frac{A'_t - A'_{is} \times \bar{F} \times w'_{is}}{A'_{is}}$$

trong đó:

A'_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic;

A'_t là hàm lượng hydrocarbon tổng số của mẫu thử, kể cả chất nội chuẩn, tính bằng phần trăm của tổng diện tích pic;

$\bar{F}$ là hệ số hiệu chuẩn trung bình xác định được trong 9.1.5;

w'_{is} là hàm lượng chất nội chuẩn có trong mẫu, tính bằng miligam trên kilogam, tức là 680 đối với n-heptan hoặc 780 đối với xyclohexan.

Lấy kết quả cuối cùng là trung bình cộng của hai phép xác định (9.3), với điều kiện thoả mãn yêu cầu về độ lặp lại (xem 11.2). Nếu không thoả mãn yêu cầu về độ lặp lại, thì huỷ bỏ kết quả và tiến hành hai phép xác định mới trên các phần mẫu thử được lấy từ cùng một mẫu thử.

11 Độ chụm

11.1 Kết quả thử liên phòng thử nghiệm

Một thử nghiệm của liên phòng thử nghiệm về độ chụm của phương pháp được nêu trong Phụ lục A. Các giá trị này không áp dụng cho giải nồng độ và chất nền (matrix) ngoài phạm vi đã cho.

Nhận dạng pic

1: 2- Metylpentan

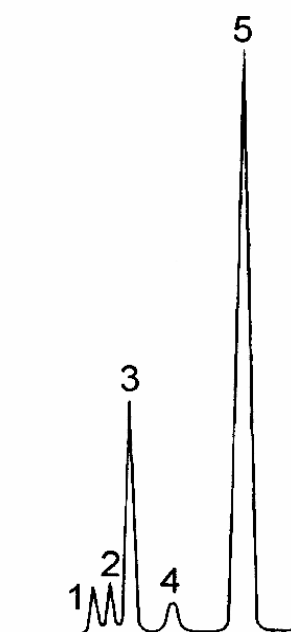
2: 3- Metylpentan

3: n- Hexan

4: Metylxyclopentan

5: Xyclohexan (nội chuẩn)

(với các thời gian lưu khác: n-heptan)



Hình 1 – Ví dụ về sắc đồ của hexan hydrocarbon

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên cùng vật liệu thử, trong cùng phòng thử nghiệm, do cùng một người thao tác, trong cùng một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % trường hợp lớn hơn giới hạn độ lặp lại r được nêu trong Phụ lục A.

11.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên cùng vật liệu thử, trong các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người thao tác khác nhau và trên các thiết bị khác nhau, không quá 5 % trường hợp lớn hơn giới hạn độ tái lập R được nêu trong Phụ lục A.

CHÚ THÍCH: Nên chú ý rằng, các giá trị về độ tái lập R trong Bảng A áp dụng trong trường hợp đặc biệt, khi so sánh các kết quả xác định độc lập thu được bởi hai phòng thử nghiệm. Khi thực hiện phương pháp đã mô tả và tốt nhất là so sánh các kết quả cuối cùng (các kết quả này thu được từ các phép xác định kép) thu được bởi hai phòng thử nghiệm, các kết quả R nên được đưa về xác suất 95 % các giá trị tới hạn khác nhau, C_{95} có thể áp dụng cho trung bình của các lần xác định dùng công thức sau:

$$C_{95} = \sqrt{(R^2 - r^2)/2}$$

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết để nhận biết mẫu đầy đủ;
- phương pháp lấy mẫu, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng và viện dẫn tiêu chuẩn này;
- mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có ảnh hưởng đến kết quả thử;
- kết quả thử nghiệm thu được, hoặc nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại, thì ghi kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(tham khảo)

Kết quả của phép thử liên phòng thử nghiệm

Một thử nghiệm quốc tế gồm 21 phòng thử nghiệm của 8 nước tham gia đã áp dụng phương pháp này do Liên đoàn Dầu, Hạt và Hiệp hội chất béo Quốc tế (FOSFA) tổ chức năm 1994. Kết quả nhận được đã được xử lý theo phương pháp phân tích thống kê theo ISO 5725 ²⁾ cho số liệu độ chính xác trong Bảng A.1.

Thử nghiệm hợp tác trên đã được tiến hành trên mẫu dầu đậu tương và dầu hướng dương như sau:

- mẫu A đến D: dầu hướng dương;
- mẫu E đến H: dầu đậu tương.
- Bảng A.2 đưa ra giá trị dự kiến trung bình của mẫu cung cấp để phân tích.
- Bảng A.2 đưa ra giá trị thực trung bình nhận được và giới hạn độ lặp lại tìm thấy qua thử nghiệm hợp tác.

Bảng A.1 – Tổng hợp kết quả thống kê

	A	B	C	D	E	F	G	H
Số phòng thử nghiệm tham gia ban đầu	21	21	21	21	21	21	21	21
Số phòng thử nghiệm gửi kết quả	18	18	18	18	17	18	18	18
Số phòng thử nghiệm có kết quả được chấp nhận	11	14	14	14	12	15	15	15
Kết quả trung bình (mg/kg)	1,55	392,6	1059,1	757,5	1,65	374,5	1043,4	808,8
Độ lệch chuẩn lặp lại, S_r (mg/kg)	0,09	10,06	20,43	24,9	0,39	8,31	25,8	18,9
Giới hạn lặp lại, r (mg/kg)	0,26	28,2	57,2	69,8	1,09	23,3	72,2	52,9
Độ lệch chuẩn tái lập, s_r	0,58	22,1	73,3	55,9	0,65	26,9	55,9	48,2
Giới hạn tái lập, R , (mg/kg)	1,62	61,8	205,2	156,4	1,83	75,4	156,6	135,1
Tỷ số R/r	6,1	2,2	3,6	2,2	1,7	3,2	2,2	2,6
Phạm vi kết quả được chấp nhận	1-2,8	342,4 đến 428,2	881 đến 1214,1	588 đến 873,7	0 đến 3,1	326,2 đến 447	896 đến 1153,6	693 đến 888,0

²⁾ ISO 5275 : 1986 (đã hủy) được sử dụng để thu được dữ liệu về độ chụm

Bảng A.2 – So sánh giá trị trung bình và giới hạn độ lặp lại dự kiến và thực tế

Loại dầu	Mẫu	Giá trị trung bình dự kiến từ phép thử đồng nhất	Giá trị trung bình từ phép thử phối hợp	Giới hạn độ lặp lại	Giới hạn độ lặp lại từ phép thử phối hợp
Dầu hướng dương	A	1,30	1,55	< 1,8	0,26
	B	384,8	392,6	74,8	28,2
	C	1100	1059,1	> 202	57,2
	D	787	757,5	152	69,8
Dầu đậu tương	E	1,17	1,65	< 1,8	1,09
	F	361,4	374,5	70,4	23,3
	G	1028	1043,4	198	72,2
	H	779,6	808,8	151	52,9

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 2625 : 2007 (ISO 5555 : 2001), Dầu mỡ động vật và thực vật – Lấy mẫu.
 - [2] ISO 5725 : 1986, *Precision of test methods – Determination of repeatability and reproducibility for standard tests method by inter-laboratory tests* (hiện nay đã hủy).
 - [3] 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.
 - [4] TCVN 6910-2 : 2001 (ISO 5725-2 : 1994), Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo. Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn.
-